

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

Obtención de Etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones

Presentado por:

Fidel Llalli Huaraca

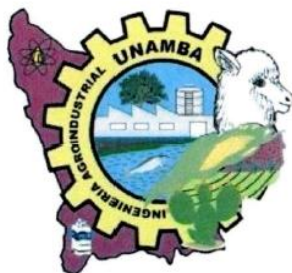
Para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial

Abancay, Perú

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC  
FACULTAD DE INGENIERIA  
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

“OBTENCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR *Saccharum officinarum* L. EN DOS CONCENTRACIONES UTILIZANDO *Zymomonas mobilis* LIBRES E INMOVILIZADAS EN DOS PROPORCIONES”

Presentado por **Fidel Llalli Huaraca**, para optar el Título de:  
Ingeniero Agroindustrial

Sustentado y aprobado el 21 de diciembre del 2022 ante el jurado evaluador:

**Presidente:**

*Mg. Alex Ernesto Muñoz Cáceres*

**Primer Miembro:**

*Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres*

**Segundo Miembro:**

*Dra. Cándida López Loayza*

**Asesor:**

*Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca*

## **Agradecimiento**

*Primero y antes doy gracias a Dios, por darme su amor, fortaleza y ganas de seguir adelante a pesar de muchos obstáculos.*

*Al Vice Rectorado de Investigación (VRIN-UNAMBA) representado en su persona a la Dra. Iris Eufemia Paredes Gonzales, por el financiamiento de este trabajo de investigación mediante el “III concurso de investigación científica y tecnológica de proyectos de tesis de pre y posgrado, Financiado con Fondos de Canon, Sobrecanon y regalías Mineras, 2019”.*

*A mi madre Victoria Huaraca Auccapuma. Por su amor y cariño, gracias a su apoyo y consejo he llegado a realizar una de mis mejores metas, es sin duda para mí la mejor de las herencias, sabiendo que no existirá forma de agradecer una vida de sacrificio y esfuerzo. Con cariño y admiración, todo esto de lo debo a ti madre.*

*A mi hermano en paz descanse Mario Llalli Huaraca que fue mi apoyo constante e incondicional durante mi carrera universitaria, así como también agradecerle al Mg. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca por su apoyo incondicional en el desarrollo de las corridas experimentales en el laboratorio de biotecnología agroindustrial.*

*A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, y por medio de ella a la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial la cual me brindó la oportunidad de formarme profesionalmente a través de su personal docente.*

*A mi asesora la Dra. Guadalupe Chaquilla Quilca por compartir sus conocimientos, su tiempo y dedicación, así mismo a los jurados: Mg. Alex Enesto Muñoz Cáceres, Ing. Lourdes Salcedo Sucasaca, Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres y la Dra. Cándida López Loayza, por sus alcances ya que han permitido la consecución de esta investigación. Finalmente, unas gracias de todo corazón a todos mis grandes amigos y amigas de la carrera, quienes directa o indirectamente aportaron con sus valiosos conocimientos durante toda la ejecución del estudio.*



### ***Dedicatoria***

*A Dios, por darme la oportunidad de vivir y ser el arquitecto de mi vida y que bendice la existencia de toda su creación.*

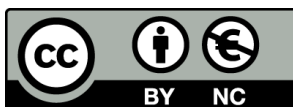
*Este trabajo de investigación va dedicado de manera especial a un ser realmente maravilloso que siempre creyó en mí y que está conmigo incondicionalmente en todo momento apoyándome con el único fin de continuar y no rendirme jamás esa persona es mi hija Heidi Selene Llalli Yntusca que lo quiero.*



“Obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones”

Línea de investigación: Caracterización, desarrollo de procesos e innovación de la agroindustria

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



# ÍNDICE

Pág.

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>CAPÍTULO I</b> .....	4
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	4
1.1 Descripción del problema.....	4
1.2 Enunciado del Problema.....	4
1.2.1 Problema general .....	4
1.2.2 Problemas específicos.....	4
1.2.3 Justificación de la investigación .....	5
<b>CAPÍTULO II</b> .....	6
<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	6
2.1 Objetivos de la investigación .....	6
2.2.1 Objetivo general .....	6
2.2.2 Objetivos específicos.....	6
2.2 Hipótesis de la investigación.....	6
2.2.3 Hipótesis general .....	6
2.2.4 Hipótesis específicas.....	6
2.3 Operacionalización de variables.....	7
2.3.1 Variables independientes .....	7
2.3.2 Variables dependientes .....	7
<b>CAPÍTULO III</b> .....	8
<b>MARCO TEÓRICO REFERENCIAL</b> .....	8
3.1 Antecedentes .....	8
3.2 Marco teórico .....	9
3.2.1 Descripción de la Caña de Azúcar.....	9
3.2.2 Clasificación taxonómica .....	10
3.2.3 Morfología de caña de azúcar <i>Saccharum officinarum</i> L.....	10
3.2.4 Características de caña de azúcar <i>Saccharum officinarum</i> L. ....	11
3.2.5 Requerimientos para el cultivo de la caña de azúcar .....	14
3.2.6 Clasificación científica .....	16
3.2.7 Descripción fenotípica de <i>Zymomonas mobilis</i> .....	16
3.2.8 Necesidades nutritivas .....	17



3.2.9	Metabolismo de la bacteria <i>Zymomonas mobilis</i> .....	17
3.2.10	Curva de crecimiento (Fed. Batch).....	18
3.2.11	Crecimiento microbiano .....	18
3.2.12	Descripción del etanol .....	19
3.2.13	Especificaciones técnicas .....	20
3.2.14	Metodología de producción .....	20
3.2.15	Ecuación de monod .....	21
3.3	Marco conceptual .....	21
<b>CAPÍTULO IV .....</b>		<b>23</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>		<b>23</b>
4.1	Tipo y nivel de investigación .....	23
4.2	Diseño de la investigación.....	23
4.3	Factores en estudio .....	23
4.4	Población y muestra .....	24
4.4.1	Muestra .....	24
4.5	Procedimiento.....	25
4.5.1	Obtención y Caracterización del Etanol con Células Libres <i>Zymomonas Mobilis</i> ..	25
4.5.1.1	Mantenimiento de la cepa <i>Zymomonas mobilis</i> .....	25
4.5.1.2	Proliferación de cepas la cepa de <i>Zymomonas mobilis</i> .....	25
	Análisis fisicoquímicos .....	28
4.5.2	Obtención y Caracterización del Etanol con Células Inmovilizada de <i>Zymomonas mobilis</i> .....	29
4.5.2.1	Proliferación de la cepa <i>Zymomonas mobilis</i> .....	29
	Análisis característicos fisicoquímico según normas técnicas.....	33
4.6	Técnicas e instrumentos .....	34
4.6.1	Solidos solubles .....	34
4.6.2	Materiales reactivos .....	36
4.6.3	Reactivos e Insumos: .....	36
4.7	Análisis estadístico.....	36
4.8	Técnicas Estadísticas.....	38
4.8.1	Hipótesis Estadísticas .....	38
<b>CAPÍTULO V.....</b>		<b>39</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>		<b>39</b>
5.1	Resultados de las características fisicoquímicas del etanol .....	39
5.1.1	Solidos solubles (°Brix).....	39
5.1.2	pH .....	40
5.1.3	Densidad .....	42

5.1.4	Acidez total.....	43
5.1.5	Biomasa .....	44
5.1.6	Azucares reductores (DNS).....	46
5.1.7	Grado alcohólico.....	47
5.1.8	Esteres como Acetato de etilo .....	49
5.1.9	Acetaldehídos .....	50
5.1.10	Iso butanol .....	52
5.1.11	3-Metil-1-butanol /2-metil butanol.....	53
5.1.12	Alcoholes superiores.....	55
5.2	Contrastación de hipótesis.....	56
5.2.1	Discusión de resultados .....	57
5.2.1.1	Solidos solubles (°Brix) .....	57
5.2.1.2	pH.....	58
5.2.1.3	Densidad .....	59
5.2.1.4	Acidez total .....	59
5.2.1.5	Biomasa.....	60
5.2.1.6	Azucares reductores (DNS) .....	60
5.2.1.7	Grado alcohólico.....	61
5.2.1.8	Esteres, Acetato de etilo.....	62
5.2.1.9	Acetaldehídos.....	62
5.2.1.10	Iso butanol.....	63
5.2.1.11	3-Metil-1-butanol /2-metil butanol .....	63
5.2.1.12	Alcoholes superiores totales .....	64
<b>CAPÍTULO VI.....</b>		<b>65</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>		<b>65</b>
6.1	Conclusiones .....	65
6.2	Recomendaciones.....	65
<b>ANEXOS.....</b>		<b>71</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 — Operacionalización de variables .....	7
Tabla 2 — Clasificación taxonómica.....	10
Tabla 3 — Variedades de caña de azúcar en el Perú .....	12
Tabla 4 — Composición química de los tallos y de los jugos de la caña de azúcar .....	13
Tabla 5 — Clasificación científica de la bacteria <i>Zymomonas Mobilis</i> .....	16
Tabla 6 — Características organolépticas.....	20
Tabla 9 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta.....	25
Tabla 10 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta.....	26
Tabla 10 — Análisis fisicoquímicos.....	28
Tabla 11 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta.....	29
Tabla 12 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta.....	30
Tabla 13 — Análisis característicos fisicoquímico según normas técnicas .....	33
Tabla 14— Análisis de varianza para sólidos solubles.....	40
Tabla 15 — Prueba de Tukey, para sólidos solubles .....	40
Tabla 16 — Análisis de varianza para pH .....	41
Tabla 17 — Prueba de Tukey .....	41
Tabla 18 — Análisis de varianza para densidad .....	42
Tabla 19 — Prueba de Tukey para densidad .....	43
Tabla 20 — Análisis de varianza para acidez total.....	44
Tabla 21 — Prueba de Tukey para acidez total .....	44
Tabla 22 — Análisis de varianza para biomasa.....	45
Tabla 23 — Prueba de Tukey para los resultados de biomasa .....	46
Tabla 25 — Prueba de Tukey, para los resultados de azúcares reductores, al final de la fermentación .....	47
Tabla 26 — Análisis de varianza para grados alcohólicos .....	48
Tabla 28 — Análisis de varianza para ésteres como acetato de etilo .....	50
Tabla 29 — Prueba de Tukey para ésteres como acetato de etilo .....	50
Tabla 30 — Análisis de varianza para acetaldehído.....	51
Tabla 31 — Prueba de Tukey para acetaldehído .....	52
Tabla 32 — Análisis de varianza para Iso butanol .....	53
Tabla 33 — Prueba de Tukey de Iso butanol.....	53
Tabla 34 — Análisis de varianza para 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol.....	54
Tabla 35 — Prueba de Tukey, para los resultados de 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol .....	55
Tabla 36 — Análisis de varianza para alcoholes superiores.....	56

Tabla 37 — Prueba de Tukey, de alcoholes superiores .....	56
Tabla 38 — Análisis de solidos solubles (°Brix).....	72
Tabla 39 — Análisis de pH.....	72
Tabla 40 — Análisis de densidad (g/cm <sup>3</sup> ) .....	72
Tabla 41 — Análisis de acidez total (g/L).....	73
Tabla 42 — Análisis de biomasa (g/ml). .....	73
Tabla 43 — Análisis de azúcares reductores (DNS) .....	73
Tabla 44 — Análisis de grado alcohólico (° GL). .....	74
Tabla 45 — Análisis de esterres como acetato de etilo (mg/100 ml A.A).....	74
Tabla 46 — Análisis de acetaldehídos (mg/100 ml A.A).....	74
Tabla 47 — Análisis Iso butanol (mg/100 ml A.A).....	75
Tabla 48 — Análisis de 3 – metil -1- butanol/ 2 – metil butanol (mg/100 ml A.A). .....	75
Tabla 49 — Análisis de Alcoholes superiores (mg/100 ml A.A).....	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1 — Morfología de la planta de caña de azúcar. Extraído de (MORENO, 2017).....	10
Figura 2 — Características de la calidad de caña de azúcar. Extraído de (LARRAHONDO, 2018) .....	11
Figura 3 — Características Factores limitantes de la productividad del cultivo de caña de azúcar, Extraído de (CASTRO et al., 2017) .....	15
Figura 4 — Características Vía metabólica de degradación de sustrato de Entner - Doudoroff en <i>Zymomonas mobilis</i> . Extraído (KALNENIEKS, 2014) .....	17
Figura 5 — Curva de crecimiento en cultivo (Fed. Batch), Extraído de (GARCIA, 2012) .....	18
Figura 6 — Diagrama de flujo cualitativo para la producción de etanol de caña de azúcar.....	21
Figura 7 — Preparación del medio de jugo de caña de azúcar <i>Saccharum officinarum</i> L. para células libres de <i>Zymomonas mobilis</i> .....	27
Figura 8 — Diagrama flujo de caracterización de etanol.....	28
Figura 9 — Diagrama de flujo para la inmovilización de la <i>Zymomonas mobilis</i> .....	31
Figura 10 — Sólidos soluble (°Brix) al final de la fermentación .....	39
Figura 11 — Comportamiento de pH al final de la fermentación .....	41
Figura 12 — Comportamiento de densidad al final de la fermentación .....	42
Figura 13 — Comportamiento de acidez total al final de la fermentación.....	43
Figura 14 — Incremento promedio de la biomasa al final de la fermentación.....	45
Figura 15 —Valores obtenidos en el contenido de azúcares reductores al final de la fermentacion .....	46
Figura 16 — Grado alcohólico al final de la fermentación .....	48
Figura 17 — Esteres como Acetato de etilo al final de la fermentación .....	49
Figura 18 — Valores obtenidos en el contenido de acetaldehídos al final de la fermentacion ..	51
Figura 19 — Valores obtenidos en el contenido de Iso butanol al final de la fermentacion .....	52
Figura 20 — Valores obtenidos en el contenido de 3-metil-1-butanol /2-metil butanol al final de la fermentacion.....	54
Figura 21 — Valores obtenidos en el contenido de alcoholes superiores al final de la fermentacion .....	55

## INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar ha sido ampliamente utilizada para la producción de etanol y/o bioetanol, el cual no solo sirve como combustible y para la desinfección, sino también como material de partida en la producción de productos como ácido acético, acetaldehído, butanol, etileno, entre otros; en la actualidad la tendencia es la producción de etanol con nuevas alternativas, que permitan la obtención de mayores rendimientos, menores tiempos de fermentación y mejor calidad y una de estas alternativas es como el uso de cepas no tradicionales (CRUZ, 2022).

La producción de caña de azúcar en el Perú, según los resultados del IV Censo Nacional Agropecuario 2012, realizado por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (2013), se cultivan alrededor de 140 000 ha de caña de azúcar y se producen alrededor de 10 millones de toneladas de caña, principalmente en los departamentos de La Libertad y Lambayeque (POLLACK, HELFGOTT y TEJADA 2018); pero también se produce en otras regiones como Apurímac, ya que presenta condiciones climáticas apropiadas para el desarrollo de la caña de azúcar, especialmente en el valle del Pachachaca Abancay, donde existen pequeñas industrias de producción de etanol, en la mayoría de las micro empresas, la producción de etanol se realiza de forma artesanal con fermentos nativos o no comerciales, obteniendo bajos rendimientos, largos tiempos de fermentación incluso con la presencia de compuestos tóxicos.

Esta investigación tiene la finalidad de buscar alternativas que permitan obtener buenos rendimientos en la producción de etanol, por esta razón nos planteamos la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar, mediante la incorporación de células libres e Inmovilizadas de la bacteria *Zymomonas mobilis*. De esta manera con esta investigación se desea contribuir en la mejora de y optimización de procesos agroindustriales, como es el caso de obtención de etanol en la región Apurímac y el país.



## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue el estudio obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando la bacteria *Zymomonas Mobilis* en condiciones libres e inmovilizadas en dos proporciones. Se planteó una metodología experimental a nivel laboratorio, para esta investigación se manipularon variables independientes como la concentración del jugo de la caña de azúcar de (10 ° y 20 °Brix), concentración del inóculo (7.5 g/L, 10 g/L de biomasa de *Zymomonas mobilis*) así como la cepa *Zymomonas mobilis* en dos condiciones (libres e inmovilizadas), se evaluó su efecto sobre las características fisicoquímicas (°Brix, pH, acidez total, densidad, extracto seco, azúcares reductores y grados alcohólicos) y compuestos volátiles después de fermentación (acetato de etilo, ésteres, acetaldehídos, isobutanol, 3 metil-1-butanol /2-metil butanol, alcoholes superiores), para ello se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial evaluando 8 diferentes tratamientos. Los resultados nos indican diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos tanto para las características fisicoquímicas como para los compuestos volátiles. En los que se puede apreciar que el factor que influyó más, fue la concentración de sólidos solubles de la caña, especialmente a mayor concentración se obtuvo al final de la fermentación más °Brix, densidad, grados alcohólicos y azúcares reductores, la condición de la bacteria en estado de células libres e inmovilizadas en acidez total y biomasa, mas no así la concentración del inóculo. Cabe indicar que los resultados de todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos establecidos en la normativa nacional e internacional.

**Palabra clave:** Etanol, fermentaciones, *Zymomonas mobilis*, células libres y células inmovilizadas.



## ABSTRACT

The aim of this research was the study of obtaining ethanol from sugarcane juice *Saccharum officinarum* L. in two concentrations using the *Zymomonas Mobilis* bacterium under free and immobilized conditions in two proportions. An experimental methodology was proposed at the laboratory level, for this investigation independent variables were manipulated such as the concentration of sugarcane juice (10 ° and 20 °Brix), inoculum concentration (7.5 g/L, 10 g/L of biomass of *Zymomonas mobilis*) as well as the astrain in two conditions (free and immobilized), their effect on the physicochemical characteristics (°Brix, pH, total acidity, density, dry extract, reducing sugars and alcoholic degrees) and compounds was evaluated. volatiles after fermentation (ethyl acetate, esters, acetaldehydes, isobutanol, 3-methyl-1-butanol /2-methylbutanol, higher alcohols), for which a completely randomized design (DCA) was used with a factorial arrangement evaluating 8 different treatments. The results indicate statistical differences ( $p < 0.05$ ) between the treatments both for the physicochemical characteristics and for the volatile compounds. In which it can be seen that the factor that influenced the most was the concentration of soluble solids of the cane, especially the higher the concentration for more °Brix, density, alcoholic degrees and reducing sugars, the condition of the fermentation, was obtained at the end of the fermentation. bacteria in the state of free and immobilized cells in total acidity and biomass, but not the concentration of the inoculum. It should be noted that the results of all treatments are within the ranges established in national and international regulations.

**Keywords:** *Ethanol, fermentations, Zymomonas mobilis, free cells and immobilized cells.*



# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Descripción del problema

En el valle de Pachachaca de la Región Apurímac existen suelos y clima favorable para la producción de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* L., que es la materia prima para la producción del aguardiente y/o etanol y dicha producción se caracteriza por ser artesanal (DONAIRES, 2018).

Uno de los principales problemas que se les presenta a los productores en la obtención del etanol y/o cañazo, es la inadecuada fermentación del jugo de caña de azúcar en barriles de polietileno generando bajo nivel de concentración de temperatura, inapropiado conversión de azúcar en etanol y por lo cual se obtiene menor calidad en las características organolépticas del producto final lo que trae como consecuencia mayor tiempo de fermentación, bajo contenido de etanol de ahí nace el interés de realizar la investigación donde se busca disminuir el tiempo de fermentación, mejorar la conversión de azúcar en etanol que permite mejorar las características organolépticas del aguardiente de caña realizar el estudio en la obtención de etanol (CHIRINOS, PINTO y HUAMAN, 2019).

A partir de estos problemas nace el interés de utilizar la cepa de *Zymomonas mobilis*, ya que esta bacteria tiene la alta fermentabilidad en desdoblar el jugo de caña azúcar en etanol; para lo cual se planteó ejecutar un estudio experimental a nivel de laboratorio para el proceso de fermentación con células libres e inmovilizadas de la cepa *Zymomonas mobilis*, a diferentes concentraciones del jugo de la caña de azúcar (LIZARRAGA, 2012).

### 1.2 Enunciado del Problema

#### 1.2.1 Problema general

¿Es posible obtener etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones?

#### 1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es la concentración óptima de jugo de caña de azúcar, para obtener un mejor rendimiento de etanol?
- ¿Cuál es la cantidad óptima del inóculo de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* para obtener un mejor rendimiento de etanol?



- ¿Cuáles son las características físico químicas que posee el etanol producido con células libres e inmovilizadas *Zymomonas mobilis* a nivel laboratorio utilizando jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L.?

### 1.2.3 Justificación de la investigación

El jugo de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. generalmente es utilizada desde tiempos muy remotos en la obtención de bebidas fermentadas como el cambay y el aguardiente, por lo que se vio por conveniente utilizar esta cepa gracias a su capacidad de fermentabilidad y degradabilidad de los azúcares presentes en los vegetales como la glucosa, fructosa y sacarosa, donde es su único medio que puede adaptarse para obtener etanol, de esta manera se tiene que sustituir las cepas nativas por bacterias *Zymomonas mobilis* para que los productores del cañazo del valle de Pachachaca y/o de la región de Apurímac puedan utilizar esta cepa *Zymomonas mobilis* y así puedan minimizar el tiempo y maximizar el rendimiento de la fermentación (RODRIGUEZ, 2015).

Estudios mencionados declaran que la bacteria *Zymomonas mobilis* cumple con los requisitos de producción de etanol no es exigente en cuanto a medio de cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, produce bajos niveles de subproductos, osmotolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares, presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimentación para el procesamiento posterior (PULIDO, 2020).

El trabajo de investigación se enfoca en la utilización de una bacteria que es mucho más eficiente que las levaduras nativas presentes en los toneles de fermentación de los productores de las bebidas fermentadas del valle de Pachachaca de la región de Apurímac, ya que con estas bacterias se reduciría el tiempo de fermentación y el costo y por ende, se va trabajar con esta cepa *Zymomonas mobilis* puesto que la cepa produce etanol por la vía Entner Doudoroff (RUIZ et al., 2016).



## CAPÍTULO II

### OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 2.1 Objetivos de la investigación

##### 2.2.1 Objetivo general

Obtener etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas Mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones.

##### 2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar la concentración óptima de jugo de caña de azúcar, para obtener un mejor rendimiento de etanol.
- Determinar la cantidad óptima de inóculo de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* para obtener un mejor rendimiento de etanol.
- Determinar las características fisicoquímicas y compuestos volátiles que posee el etanol producido con células libres e inmovilizadas *Zymomonas mobilis* a nivel laboratorio utilizando jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones.

#### 2.2 Hipótesis de la investigación

##### 2.2.3 Hipótesis general

La obtención de etanol es influenciada por la diferente proporción de células libres o inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* y la concentración del zumo de caña *Saccharum officinarum* L.

##### 2.2.4 Hipótesis específicas

- La concentración de jugo de caña *Saccharum officinarum* L. influye en el rendimiento de la producción de etanol con células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*.
- La cantidad de inóculo de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, influye en el rendimiento de la producción de etanol.
- Las características fisicoquímicas y compuestos volátiles del etanol son influenciadas por las células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* y por la concentración del jugo de caña *Saccharum officinarum* L.



## 2.3 Operacionalización de variables

### 2.3.1 Variables independientes

- Jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. (diferentes concentraciones).
- Cepa *Zymomonas mobilis* (libre e inmovilizada).
- Cepa *Zymomonas mobilis* libre e inmovilizada (diferentes proporciones).

### 2.3.2 Variables dependientes

- Obtención y caracterización del etanol.

**Tabla 1 — Operacionalización de variables**

Variable	Indicadores	Índice
<b>Independientes</b>  Jugo de la caña de azúcar ( <i>Saccharum officinarum</i> L). Cepa <i>Zymomonas mobilis</i> .	Concentración del jugo de la caña de azúcar <i>Saccharum officinarum</i> L.  C1 = 10  C2 = 20	  °Brix  °Brix
	Tipo de Célula  A1= Libre  A2 = Inmovilizada	  Nominal
	Concentración del inóculo de célula libre e inmovilizada <i>Zymomonas mobilis</i> .  B1 = 7.5  B2 = 10	  g/L  g/L
<b>Dependientes</b>  Características fisicoquímicas del etanol.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sólidos solubles</li> <li>• pH</li> <li>• Acidez</li> <li>• Densidad</li> <li>• Grado alcohólico.</li> <li>• Alcoholes superiores.</li> <li>• Ésteres, totales</li> <li>• Acetato de etilo</li> <li>• Aldehídos totales</li> <li>• Iso butanol</li> <li>• 3-Metil-1-butanol/2-Metil-1-butanol</li> <li>• Biomasa</li> <li>• Azúcares reductores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• °Brix</li> <li>• [H+]</li> <li>• g de ácido/L</li> <li>• g/L</li> <li>• °GL</li> <li>• mg/ 100 ml A.A</li> <li>• mg/100 ml A.A</li> <li>• mg/100 ml A.A</li> <li>• mg/100 ml A.A</li> <li>• mg/100 ml A.A</li> <li>• mg/100 ml A.A</li> <li>• g/L</li> <li>• g/L</li> </ul>

## CAPÍTULO III

### MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 3.1 Antecedentes

MARTINEZ, (2010) en el trabajo de investigación de producción de bioetanol con células inmovilizadas en la fermentación de jugo de caña de azúcar con la bacteria *Zymomonas mobilis* con células mixtas e inmovilizadas, se da la condición óptima para la producción de etanol a temperatura de 30-40 °C y pH 8.5, respectivamente. Para llevar a cabo la fermentación con células libres en cultivo mixto se usó en un reactor agitado de 2 L, con agitación de 100 rpm, obteniéndose una producción de etanol de 13.08 g/L, y un rendimiento de 0.5773 (g prod/g sust en biomasa). La fermentación con células inmovilizadas en cultivo mixto se llevó a cabo en un reactor agitado de 0.5 L, con agitación de aproximadamente 100 rpm; fue inoculado primero con *Zymomonas mobilis* y 8 h después *Saccharomyces cerevisiae*, obteniéndose una producción de etanol de 8.42 g/L y un rendimiento de 0.4097 (g prod/g sust en biomasa).

MARTINEZ, (2016) en el trabajo de investigación de “Evaluación del proceso fermentativo utilizando células libres e inmovilizadas para obtener una bebida alcohólica tipo vino a partir de miel” El objetivo de este trabajo fue evaluar cómo la disposición de las células de levadura (libres o inmovilizadas) en el fermentador, el tipo de miel (floral o mielato) y la temperatura manejada (25°C o 30 °C) influyen sobre las principales características fisicoquímicas y sensoriales en la producción de hidromiel. La concentración de azúcares, etanol, acidez total, volátil y glicerol se midieron durante el proceso. El proceso de inmovilización en alginato permitió la reutilización de las células de levadura durante 4 fermentaciones continuas sin verse afectado su rendimiento.

KHOJA et al. (2018) En una investigación titulada “Fermentación de melaza de caña de azúcar utilizando *Zymomonas mobilis* para mejorar la producción de bioetanol”, así que se utilizó como microorganismo para producir bioetanol a partir de azúcar melaza de caña, la cepa gram negativa, anaeróbica facultativa, en forma de bastón *Zymomonas mobilis* mediante fermentación anaeróbica. El estudio se realizó para investigar las condiciones óptimas para la producción de bioetanol a través de un proceso de fermentación discontinua. La unidad de fermentación fue diseñada para determinar el efecto de los parámetros de proceso como la temperatura de fermentación, el pH, la concentración de



azúcar y el suministro de nutrientes. La cepa *Zymomonas mobilis* produjo bioetanol al 9.3 % (v/v) utilizando 16 g/100mL de azúcar con una eficiencia de fermentación del 92.5.

MONTAÑEZ et al. (2011) en una investigación de Fermentación de los fructanos del Agave tequilana Weber Azul por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol se estudiaron fructanos contenidos en las bases de las hojas del agave fueron extraídos y utilizados como fuente de carbono a varias concentraciones para la producción de bioetanol. Se usaron dos microorganismos etanolgénicos: la levadura *Saccharomyces cerevisiae* CDBB-L-331 y la bacteria *Zymomonas mobilis* CDBB-B-603. Las hojas del agave tequilero (*Agave tequilana* Weber Azul) constituyen los residuos agrícolas del cultivo y a pesar de su alto contenido de azúcares reductores totales (ART) y a los grandes volúmenes que anualmente se generan, actualmente no se utilizan. Los resultados muestran que la bacteria *Zymomonas mobilis* es capaz de crecer a mayores concentraciones de ART, produce mayor cantidad de etanol y tolera mayores concentraciones del mismo. El rendimiento en la producción de etanol, la eficiencia de conversión y la productividad volumétrica también fueron mayores cuando la fermentación se llevó a cabo con *Zymomonas mobilis* a una concentración de 20% de azúcares reductores totales.

## 3.2 Marco teórico

### 3.2.1 Descripción de la Caña de Azúcar

La caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis CONADESUCA, (2015).



### 3.2.2 Clasificación taxonómica

Tabla 2 — Clasificación taxonómica

Clasificación	Taxonomía
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Subclase	<i>Commelinidae</i>
Orden	<i>Poales</i>
Familia	<i>Poaceae</i>
Subfamilia	<i>Panicoideae</i>
Tribu	<i>Andropogoneae</i>
Genero	<i>Sacharrum</i>
Especie	<i>S.officinarum</i>

Extraído de CONADESUCA, (2015)

### 3.2.3 Morfología de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L.

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es una planta monocotiledónea que pertenece a la familia de las pomáceas. Morfológicamente la planta nos permite notar diferencias y conocer las especies y variedades que existen para después poder hacer una relación en cuanto al rendimiento y su adaptación en cuanto a comportamiento.

Es un cultivo pluriannual desde la siembra a la cosecha el cultivo puede durar desde 14 y hasta 17 meses, esta plantación dura aproximadamente 5 años. Tiene un tallo macizo de 2 a 5 metros de altura con 5 o 6 cm de diámetro y el sistema radicular lo compone un robusto rizoma subterráneo; puede propagarse por estos rizomas y de tallo, en este periodo la caña de azúcar pasa por cuatro etapas: germinación y/o emergencia, raíz, tallo, yema, hojas y vainas, inflorescencia, ahijamiento, rápido crecimiento y maduración (Figura 1). La caña tiene una riqueza de sacarosa del 14% aproximadamente, aunque varía a lo largo de toda la recolección MORENO, (2017).

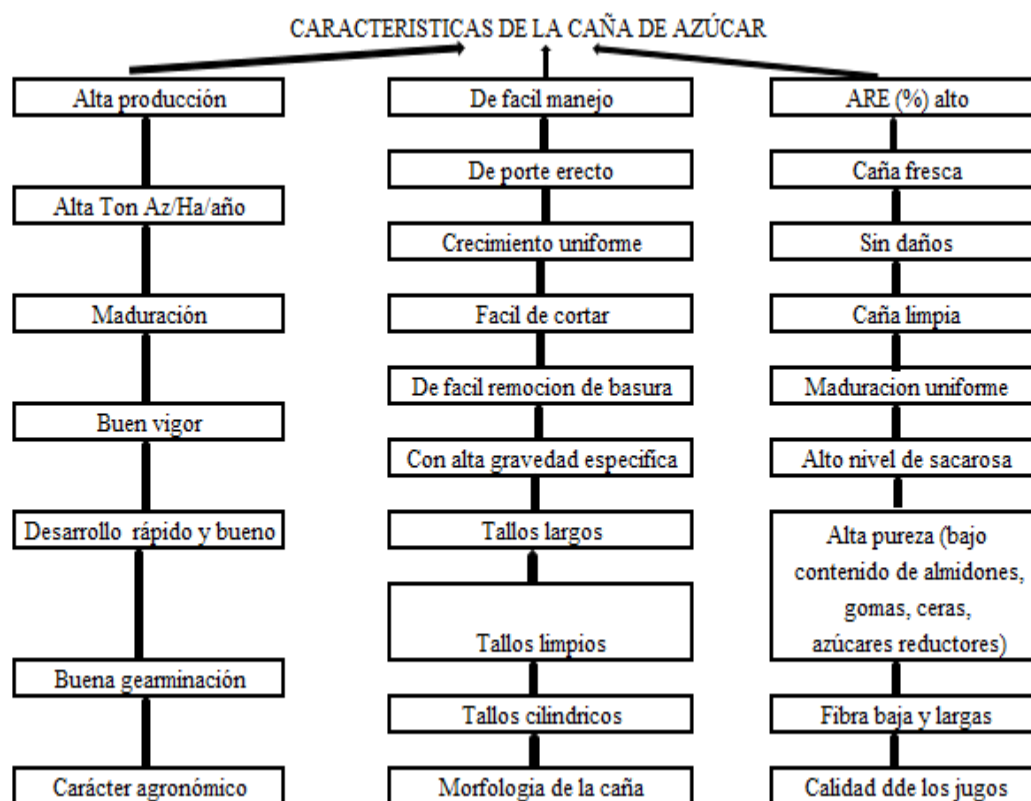


Figura 1 — Morfología de la planta de caña de azúcar. Extraído de MORENO,(2017)

### 3.2.4 Características de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L.

En general, las características principales de la caña de buena calidad dependen de factores relacionados como las características agronómicas, condiciones agroclimáticas, aspectos morfológicos estas cualidades le confieren la calidad de jugo.

Posteriormente se esquematiza en la siguiente (Figura 2), el resume las características que debe reunir la caña de azúcar de buena calidad. Aunque la calidad de los jugos está determinada principalmente por un alto nivel de sacarosa, otros constituyentes químicos de carácter orgánico determinan la calidad del procesamiento y del producto final. Por lo cual se describe a continuación:



**Figura 2 — Características de la calidad de caña de azúcar. Extraído de LARRAHONDO, (2018)**

#### a) Variedades de caña de azúcar en el Perú

En la década de los 50 se introdujeron variedades hawaianas como la H32-8560, que hasta la fecha sigue manteniéndose con buenos resultados. Las principales variedades de caña de azúcar que se cultivan en el Perú son 18. Estas variedades, difieren en características como brotamiento, formación de macollo, crecimiento, acame, riqueza de pol y capacidad soquera. Las variedades de

brote más rápido son la H44 - 3098, H50 - 7209, H52 - 4610, H55 – 8248, H50-2036, H57- 5174 (Tejada, 2013).

Las variedades más utilizadas son:

**Tabla 3 — Variedades de caña de azúcar en el Perú**

<b>Variedades</b>	<b>Ciclo (Meses)</b>	<b>% Floración</b>
Azul Casa Grande:	17 – 18	45
H32-8560	17 – 18	40
Mex 73-523	ingreso hace 12 años	25
H69-3904	15 – 16	No florea - Florea poco
Mex 69-420	ingreso hace 12 años	28- 30
PR 61-632 (Puerto rico)	*Forma tallos muy gruesos, buen peso y tamaño	
H32-8560 (Hawayanas)	* de las 21 variedades solo quedaron estas; H50-7209, H44-3098, H50-2036, H575174.	
PCG12-745 (Perú Casa Grande)	* Se hizo mejoramiento genético en Perú	

**Extraído de TEJADA (2013)**

Las otras variedades más utilizadas son también como, San Jacinto es la PCG12 – 745 (Azul Casa Grande) en 36.70% de la superficie cultivadas, el problema de esta variedad es que florea mucho. Cita Agro banco TEJADA, (2013).

**b) Composición de la caña de azúcar**

Con respecto a la composición físico químico del “jugo de caña de azúcar” se incluyó un nivel mínimo del 75,0% de azúcares totales (expresados como sacarosa), así como también un nivel máximo del 10,0% para azúcares reductores, ya que para favorecer la granulometría y reducir los cambios reológicos, es necesario contar con un nivel máximo de azúcares reductores MARCET et al., (2017).

El jugo de caña de azúcar tiene una composición promedio que se muestra en el cuadro.



**Tabla 4 — Composición química de los tallos y de los jugos de la caña de azúcar**

CONSTITUYENTE	PORCENTAJE
Agua	73 – 76
Sólidos	24 – 27
Sólidos Solubles (°Brix)	10 – 16
Fibra (Seca)	11 – 16
EN EL JUGO:	
Azúcares	
- Sacarosa	75 – 92
- Glucosa	70 – 88
- Fructuosa	2 - 4
Sales	
- Inorgánicas	3.0 – 3.4
- Orgánicas	1.5 – 4.5
Ácidos Orgánicos	1-3
Aminoácidos	1.5 – 5.5
- Otros No Azúcares	1.5- 2.5
- Proteína	0.5 – 0.6
- Almidones	0.001 – 0.050
- Gomas	0.3 – 0.6
- Ceras, Grasas, etc.	0.15 – 0.50
Compuestos Fenólicos	0.10 – 0.80

**Extraído de MARCET et al. (2017)**

En casos generales la caña de azúcar está constituida principalmente por Jugo y Fibra, siendo la Fibra la parte insoluble en agua formada por Celulosa, la que a su vez se compone de azúcares simples como la Glucosa (Dextrosa). A los Sólidos Solubles en agua expresados como porcentaje y representados por la Sacarosa, los Azúcares Reductores y otros componentes, comúnmente se les conoce como °Brix. La relación entre el contenido de Sacarosa presente en el jugo y el °Brix se denomina Pureza del Jugo. La tabla 4 revela que en la Caña de Azúcar el contenido de agua representa entre el 73 y el 76%. Los Sólidos Solubles Totales (°Brix % Caña) fluctúan entre 10 y 16%, y la Fibra (% de Caña) varía entre 11 y 16%, de la misma manera la composición de la Caña, el 99% corresponde a los elementos Hidrógeno, Carbono y Oxígeno. Su distribución en el tallo es de aproximadamente un 74,5% de agua, 25% de Materia Orgánica y 0,5% de Minerales REIN, (2012).

Para muchos tecnólogos y especialistas, la Caña como materia prima se constituye fundamentalmente de Fibra y Jugo, donde:



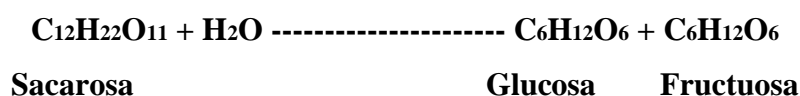


**CAÑA = JUGO + FIBRA**

**CAÑA = FIBRA + SÓLIDOS SOLUBLES (BRUX)**

La Fibra se define como la fracción de sustancias insolubles en agua que tiene interés no sólo por su cantidad sino también por su naturaleza, y el jugo como una solución diluida e impura de Sacarosa.

Los Azúcares se representan a su vez por la Sacarosa, la Glucosa y la Fructuosa, manteniendo la primera el mayor porcentaje, el cual puede alcanzar valores próximos al 18%. Los otros azúcares del jugo aparecen en proporciones variables, dependiendo del estado de maduración de la materia prima. La Sacarosa se Hidroliza con facilidad en soluciones ácidas según la siguiente reacción:



A esta reacción Hidrolítica se le aplica generalmente el nombre de Inversión y los Monosacáridos: Glucosa y Fructuosa producidos reciben el nombre de Azúcares Reductores. En el caso de Cañas maduras, los Azúcares Reductores contribuyen relativamente poco en la mayor recuperación de azúcar en forma de cristales.

La Glucosa es un componente normal de la Caña de Azúcar en cualquier fase de Desarrollo de la planta, encontrándose en el jugo en mayor o menor cantidad. La Fructuosa o Levulosa se encuentra en mayores concentraciones en Cañas que aún no alcanzan su madurez fisiológica y disminuye conforme este estado avanza y la planta madura VALENZUELA, (2014).

### 3.2.5 Requerimientos para el cultivo de la caña de azúcar

La caña de azúcar como cultivo se desempeña bien en suelos sueltos, profundos y fértiles. Si se cuenta con riego podremos lograr mejores rendimientos que en suelos sin regar. Puede producirse también en suelos marginales como los arenosos y suelos arcillosos con un buen drenaje. No se recomienda para suelos franco-limosos y limosos. Se adapta bien a los suelos con pH que va desde 4 a 8.3 ASCENCIO, (2013)

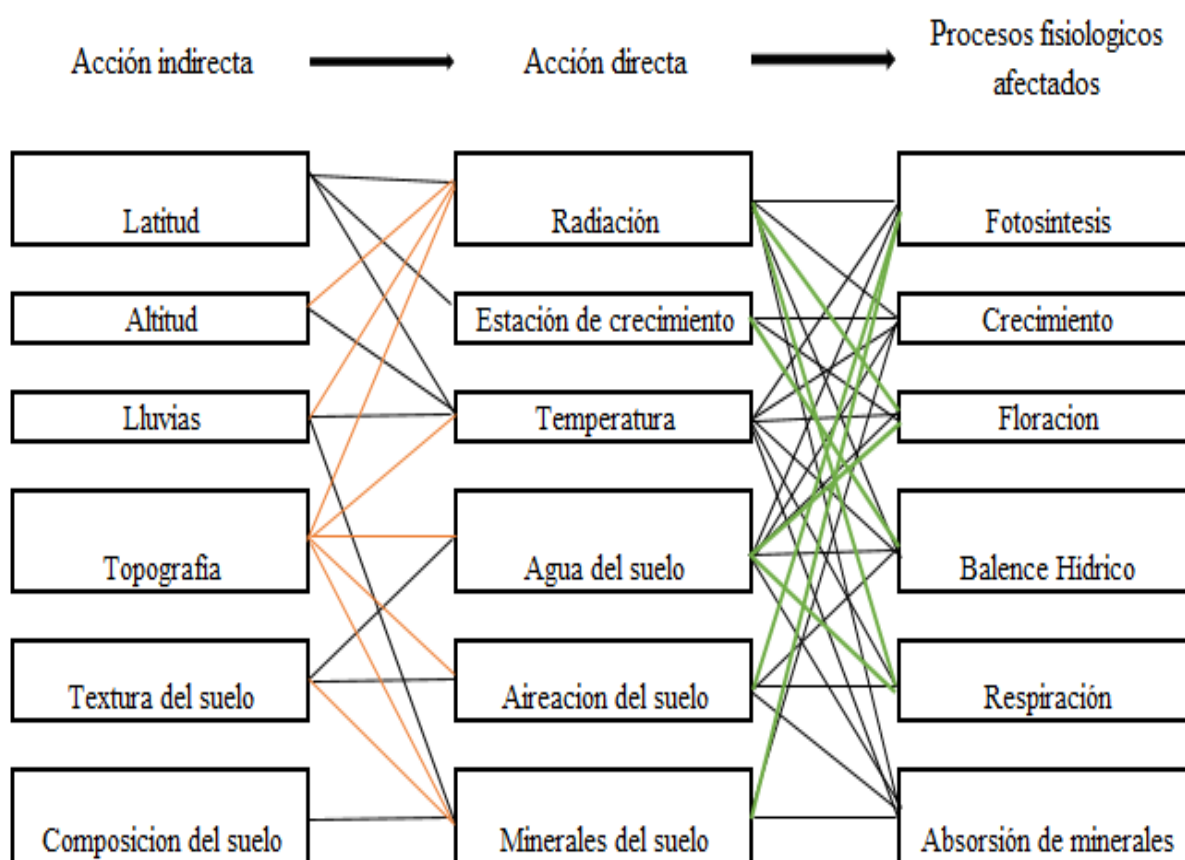
La caña de azúcar se cultiva con éxito en la mayoría de suelos, estos deben contener materia orgánica y presentar buen drenaje tanto externo como interno, y que su pH oscile entre 5.5 a 7.8, para su óptimo desarrollo. La caña de azúcar se adapta a un amplio rango de condiciones climáticas, pero se desarrolla mejor en regiones tropicales, cálidas y con amplia radiación solar. La temperatura, la humedad y la



insolación son factores que determinan el crecimiento y producción de la caña de azúcar. El clima ideal para su desarrollo es:

- Clima subtropical y tropical.
- Un verano largo y caliente.
- Planta C4, > 60 lux (lumen/m<sup>2</sup>), (600 W/m<sup>2</sup>).
- Lluvia adecuada durante el periodo de crecimiento de 1500 mm a 1800 mm.
- Clima seco soleado.
- Frio en la época de maduración y cosecha 12 a 14°C.
- Humedad relativa en crecimiento 80 – 85%.
- Humedad relativa en maduración 45 – 65%.
- Ausencia de vientos fuertes.

Las cualidades con lo que respecta a la fertilidad del suelo, se acepta internacionalmente que la planta de caña de azúcar puede tolerar variaciones severas en la fertilidad y en el equilibrio nutricional; por lo tanto, los rendimientos agroindustriales decrecen en la medida en que los niveles de fertilidad son bajos o mal equilibrados. Los factores que limitan la productividad de este cultivo se presentan:



**Figura 3 — Características Factores limitantes de la productividad del cultivo de caña de azúcar, Extraído de CASTRO et al., (2017)**

### **Zymomonas mobilis**

Es una bacteria anaerobia facultativa Gram negativa identificadas como el microorganismo responsable de la turbidez y de la modificación del sabor y aroma ocurridos en el proceso de fermentación, de que esta bacteria solo fermenta tres tipos de azúcares glucosa, fructosa y sacarosa, es mas *Zymomonas mobilis* es de gran interés para la industria de la producción de etanol; debido a su morfología ha hecho de metabolizar su sustrato por vía Ender-Doudoroff YANG et al. (2016).

*Zymomonas mobilis*, durante su evolución se ha especializado para crecer en plantas de savia con alto contenido de azúcares, exclusivamente para la conversión carbohidratos a piruvato y posterior descarboxilación de éste por la enzima piruvato descarboxilasa para dar lugar a la producción de etanol ABARCA, NAVARRETE y CARPIO, (2010).

### 3.2.6 Clasificación científica

**Tabla 5 — Clasificación científica de la bacteria *Zymomonas Mobilis***

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
Phylum	Proyeobacteria
Clase	Alfa proteobacteria
Familia	<i>Sphingomonadaceae</i>
Orden	<i>Sphingomonadales</i>
Genero	<i>Zymomonas</i>
Especie	<i>Z. mobilis</i>

Extraído de Swings y De Ley (1977)

### 3.2.7 Descripción fenotípica de *Zymomonas mobilis*

- 1.- Bastón gran negativo de 1 a 5µm de ancho y de 2 a 6 µm de largo.
  - 2.- Inmóvil o móvil debido a la presencia de 1 a 4 flagelos lofotricos.
  - 3.- Arreglo celular pleomorfico (cadenas, roquetas, filamentos).
  - 4.- Ausencia de esporas, de capsulas y de constituyentes de almacenamiento celular.
  - 5.- Catalasa positiva y oxidasa negativa.
  - 6.- Anaerobio y microaerofilico.
  - 7.- La ausencia de sacarosa es inducible y puede ir acompañada de formación levanas.
  - 8.- Las únicas fuentes de carbono que metabolizan son: glucosa, fructosa y sacarosa.
  - 9.- contenido de G+C de 47,5 a 49,5%.
  - 10.- Talla de genoma  $1.5 \times 10^9$  kdaltones, aproximadamente 1500 cistrones.
- Extraído de ABARCA, NAVARRETE y CARPIO, (2010)



### 3.2.8 Necesidades nutritivas

*Zymomonas mobilis* es una bacteria quimiorganotrofa que presenta auxotropía por el pantotenato de calcio y en algunos casos por la biotina. El nitrógeno necesario para el crecimiento puede proporcionarle por el medio de sales minerales, aminoácidos o Péptidos.

Los nitratos no son asimilados por la bacteria. El azufre, magnesio y potasio son proporcionados en forma de sales. Los oligoelementos (Mo, Fe, Zn, Mn, etc) necesarios para el metabolismo de la bacteria se encuentra en estado de trazas en las sales utilizadas para la preparación del medio del cultivo ABARCA, NAVARRETE y CARPIO, (2010).

### 3.2.9 Metabolismo de la bacteria *Zymomonas mobilis*

*Zymomonas mobilis* sólo fermenta la glucosa, la fructosa y la sacarosa, por lo tanto, presenta la particularidad de no asimilar prácticamente ninguna otra fuente de carbono, aunque se ha reportado que pueden metabolizar la rafinosa, posteriormente estos azúcares son transportados al interior de la célula por medio de difusión facilitada mediante un acarreador, son fosforiladas por una quinasa y se metabolizan por la vía de Enter-Doudoroff (fig. 4), siendo una de las pocas bacterias que utilizan esta ruta, la cual se encuentra como micro organismos aerobios estrictos facultativos KALNENIEKS, (2014).

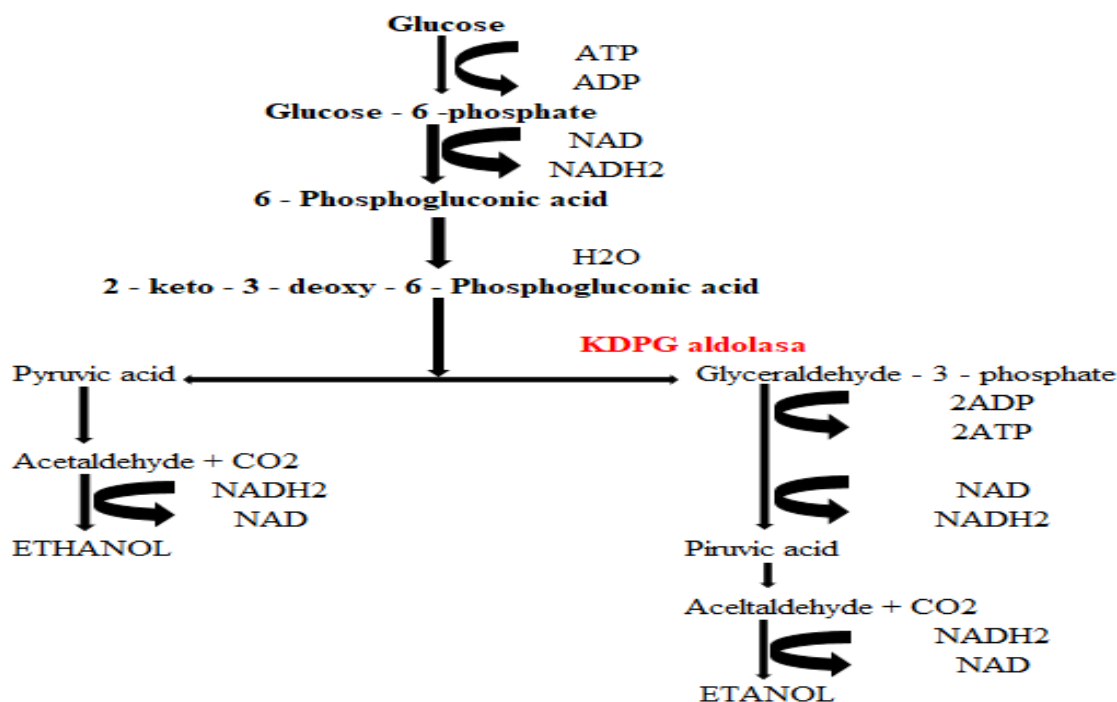
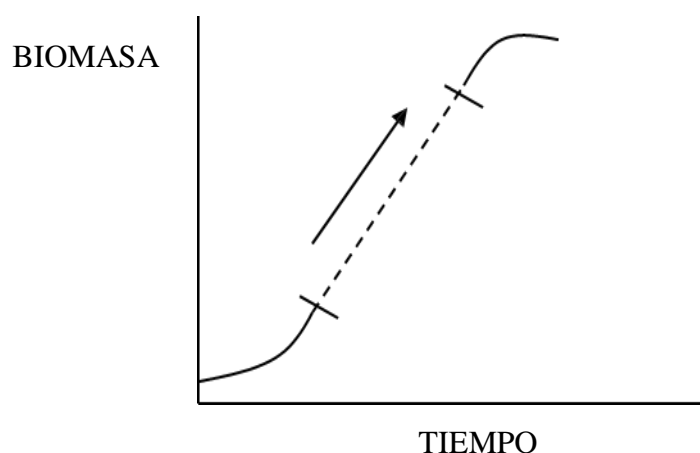


Figura 4 — Características Vía metabólica de degradación de sustrato de Entner - Doudoroff en *Zymomonas mobilis*. Extraído KALNENIEKS, (2014)

### 3.2.10 Curva de crecimiento (Fed. Batch)

El crecimiento microbiano sigue diferentes curvas de crecimiento de acuerdo al tipo de cultivo que se realiza (batch, fed batch, continuo y discontinuo), el cultivo fed batch está entre el cultivo tipo batch y continuo; aquí se busca alargar la fase exponencial de producción de biomasa para aumentar la cantidad de la misma. El proceso de producción comienza como si fuera un cultivo tipo batch, cuando los substratos de crecimiento han sido consumidos, se agregan de nuevo al cultivo permitiendo alargar la fase exponencial y mientras la fermentación discontinua puede ser considerada como un “sistema cerrado”. A tiempo cero, la solución esterilizada de nutrientes se inocula con microorganismos y se permite que se lleve a cabo la inoculación en condiciones óptimas de fermentación. A lo largo de toda la fermentación no se añade nada, excepto oxígeno (en forma de aire), un agente antiespumante y ácidos o bases para controlar el pH. La composición del medio de cultivo, la concentración de la biomasa y la concentración de metabolitos cambia generalmente en forma continua como resultado del metabolismo de las células. Después de la inoculación de una solución nutritiva estéril con microorganismos y su cultivo en condiciones fisiológicas CASTILLO, (2010).



**Figura 5 – Curva de crecimiento en cultivo (Fed. Batch), Extraído de GARCIA, (2012)**

### 3.2.11 Crecimiento microbiano

El crecimiento microbiano es el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo incrementando ordenadamente de todos los elementos y componentes de ese sistema. Por tanto, no nos referimos al crecimiento de un único microorganismo que denominaremos ciclo celular, sino al demográfico de una población. En este tema nos centraremos en el crecimiento de bacterias, el estudio que se hace puede servir también para entender el crecimiento de levaduras y de otros hongos. El crecimiento bacteriano podemos estudiarlo desde dos puntos

como a escala individual y exponencial. También el estudio del crecimiento a nivel de poblaciones se incluye como cinética de crecimiento, factores que afectan al tiempo de generación y los factores ambientales que limitan el crecimiento.

Los factores que afectan la rapidez del crecimiento, es el efecto de la concentración del sustrato; que representa la concentración total del microorganismo en una reacción de enzima sustrato, por lo que no resulta un factor limitante CALDERÓN (2017).

### **3.2.12 Descripción del etanol**

El alcohol es un líquido incoloro y volátil que está presente en diversas bebidas fermentadas, en concentraciones que van desde el 5% hasta el 20%, Algunos de estos fermentos se destilan por medio de un alambique para aumentar su concentración etílica hasta un 40%; dependiendo del género de bebida que lo contenga, el alcohol aparece acompañado de distintos elementos químicos que lo dotan de color, sabor, olor aroma suave, y otras características, con bajo contenido de impurezas y de buena aceptación por los productores y consumidores.

Es más que el etanol, se considera un combustible biodegradable derivado del uso de la energía solar almacenada en la biomasa, oxigenado y libre de azufre. Como el carbono en su cadena es de origen vegetal, al ser liberado durante la combustión no contribuye en el Balance neto de producción de dióxido de carbono, disminuyendo el efecto en el calentamiento global y la contaminación urbana THORNTON y NIELSON, (1999).



### 3.2.13 Especificaciones técnicas

**Tabla 6 — Características organolépticas**

Aspecto	Límpido y Transparente.
Color	Incoloro.
Olor	Característico.
Sabor	Característico.

Extraído de THORNTON y NIELSON (1999)

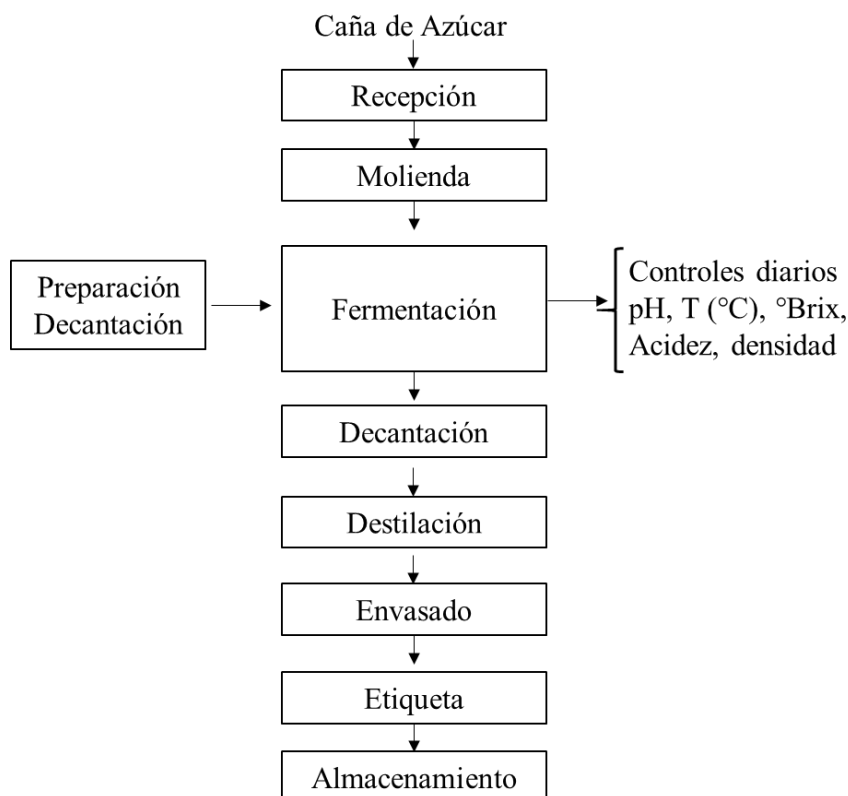
**Tabla 7 — Requisitos fisicoquímicos del etanol obtenido a partir de la caña de azúcar**

Característica	Mínimo	máximo
Grado alcohólico en GL A 20°C	42	50
Extracto seco a 100°C (g/l)	-	0.5
Acidez total expresada en ácido acético (g/l)	-	0.3
Ácidos volátiles expresado en ácido acético en 100 cm <sup>3</sup> de alcohol anhidro.	-	0.15
Esteres expresado en acetato de etilo en 100 cm <sup>3</sup> de alcohol anhidro.	-	0.2
Aldehídos expresados en aldehído acético en 100 cm <sup>3</sup> de alcohol anhidro.	-	0.001
Metanol (g/l)	-	0.02
Furfural en gramos por 100 cm <sup>3</sup> de alcohol anhidro.	-	0.004
Alcoholes superiores expresados en alcohol isobutilico en g	0.10	0.30

Extraído de THORNTON y NIELSON, (1999)

### 3.2.14 Metodología de producción

El etanol producido a partir de la caña de azúcar sigue el siguiente diagrama de flujo.



**Figura 6 — Diagrama de flujo cualitativo para la producción de etanol de caña de azúcar.**

### 3.2.15 Ecuación de monod

La ecuación de Monod es un modelo matemático para determinar el crecimiento de microorganismos. Lleva el nombre de Jacques Monod, quien propuso usar una ecuación de esta forma para relacionar las tasas de crecimiento microbiano en un ambiente acuoso con la concentración de un nutriente limitante. La ecuación de Monod tiene la misma forma que la ecuación de Michaelis-Menten, pero se diferencia en que es empírica, mientras que la última se basa en consideraciones teóricas TREJOS, ALZATE y GARCIA (2009).

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_m + S}$$

### 3.3 Marco conceptual

**Ácido graso:** Cualquiera de los numerosos ácidos alifáticos monocarboxálicos saturados o no saturados, incluyendo muchos que pueden encontrarse en la forma de ésteres o glicéridos, en mantecas (grasas), ceras y aceites esenciales.

**Aldehído:** Un precursor químico del alcohol. En algunos casos, el alcohol puede ser oxidado por aldehídos, creando sabores no deseados (“off-flavors”).

**Biomasa:** Masa o peso de los seres vivos de una especie por un área determinada.



**Dextrina:** Una molécula de azúcar compleja, sobrante (resultante) de la acción de la enzima diastásica sobre el almidón.

**Esterilización:** Eliminación o muerte de todos los microorganismos que contiene un objeto o sustancia, y que se encuentran acondicionados de tal forma que no pueden contaminarse nuevamente.

**Esteres:** Compuestos aromáticos formados a partir de alcoholes por acción de la levadura. Típicamente huele como a fruta.

**Flavor:** Término que implica la percepción integral y global de todos los sentidos que participan (olfato, gusto, vista, tacto y oído) en el momento de consumir la bebida.

**Graduación alcohólica:** o grado alcohólico volumétrico de una bebida es la expresión en grados del número de volúmenes de alcohol (etanol) contenidos en 100 volúmenes del producto, medidos a la temperatura de 20°C. Se trata de una medida de concentración porcentual en volumen.

**Hidrólisis:** El proceso de disolución o descomposición de una estructura química en agua por medios químicos o bioquímicos.

**Levaduras salvajes:** Son aquellas que no son deliberadamente utilizadas ó no están bajo control de esta forma se incluyen tanto las perjudiciales como las inocuas sin efectos detectables.

**Metabolitos:** Sustancia de bajo peso molecular, que se transforma generalmente mediante acción enzimática, durante el metabolismo.

**Mosto:** Es la solución en agua potable de carbohidratos, proteínas, sales minerales y demás compuestos resultantes de la degradación enzimática de la malta, con o sin adjuntos cerveceros, realizada mediante procesos tecnológicos adecuados.

**Metanol:** Es un compuesto orgánico perteneciente a la familia de los alcoholes. Antiguamente conocido como alcohol de madera.



## CAPÍTULO IV

### METODOLOGÍA

#### 4.1 Tipo y nivel de investigación

El tipo de investigación del presente trabajo de investigación corresponde a una investigación de tipo experimental ya que permitió que las variables de estudio que se han planteado en los objetivos como las concentraciones de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L., concentración del inocular de la cepa y la condición en estado libre e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* es allí donde se manipularon de forma intencionada las variables independientes y se dimensiono el efecto de cada una de ellas en los análisis y las características fisicoquímicas de los compuestos volátiles en la fermentación.

Respecto al nivel, la investigación es de carácter explicativo.

#### 4.2 Diseño de la investigación

En el presente trabajo de investigación el diseño experimental que se utilizó, corresponde a un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial de  $2^3$  con 8 tratamientos y tres repeticiones para garantizar la confiabilidad de los resultados, donde los dos factores estudiados fueron: los dos niveles son la concentración del jugo de la caña de azúcar 10, 20 °Brix, las diferentes concentraciones celulares del inocular de 7.5 g/L y 10 g/L de *Zymomonas mobilis* y la condición de las células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, las temperatura de fermentación fueron constantes con 38°C.

Los factores de respuesta fueron: contenido como de los sólidos solubles (°Brix), pH, densidad, acidez, grados alcohólicos, extracto seco, azúcares reductores, acidez volátil, aldehídos, ésteres, alcoholes superiores etc.

Donde los resultados fisicoquímicos y compuestos volátiles se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) para ver si existe diferencias significativas cuantitativamente y como también realizó la comparación de medias por Tukey DI RIENZO et al., (2011).

#### 4.3 Factores en estudio

**Factor A:** Concentración del jugo de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* L.

A1 = 20 °Brix

A2 = 10 °Brix

**Factor B:** Estado de la bacteria:

B1 = Libre

B2 = Inmovilizadas

**Factor C:** Concentración del inocular de célula libre e inmovilizado *Zymomonas mobilis*.

C1 = 7.5 g/L



$$C2 = 10 \text{ g/L}$$

**Tabla 8 — Tratamientos en estudio**

Tratamientos	Factor A	Factor B	Factor C	Combinaciones
<b>T1</b>	20	Inmovilizadas	7.5	A1B1C1
<b>T2</b>	20	Inmovilizadas	10	A1B1C2
<b>T3</b>	10	Inmovilizadas	7.5	A1B2C1
<b>T4</b>	10	Inmovilizadas	10	A1B2C2
<b>T5</b>	20	Libres	7.5	A2B1C1
<b>T6</b>	20	Libres	10	A2B1C2
<b>T7</b>	10	Libres	7.5	A2B2C1
<b>T8</b>	10	Libres	10	A2B2C2

Número de repeticiones: Tres (3)

Número de tratamientos: ocho (8)

Número de unidades experimentales: Veinticuatro (24)

Temperatura de fermentación de estudio 38 °C

#### 4.4 Población y muestra

La población de estudio está constituida por el jugo de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. proveniente del valle de Pachachaca.

##### 4.4.1 Muestra

###### Técnica de muestreo

El muestreo de la presente investigación fue de un muestreo no probabilístico aleatorio debido a que el jugo de la caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. a utilizase es de la misma población.

Con lo que respecta de la cepa *Zymomonas mobilis*, se tomó mediante criterios tecnológicos.

###### Tamaño de muestra

Para los ocho tratamientos con tres repeticiones se utilizó 36 litros de jugo de caña de azúcar de procedencia de valle de Pachachaca de la provincia de Abancay-Apurímac, y también se utilizó fraccionadamente de 7.5 g/L, 10 g/L de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*.

## 4.5 Procedimiento

Con el fin de lograr los objetivos de la presente investigación se dividió en etapas de manera sistemática y consecuentemente para poder facilitar el estudio, recolección y el reporte de datos.

### ETAPA I

#### 4.5.1 Obtención y Caracterización del Etanol con Células Libres *Zymomonas Mobilis*

##### 4.5.1.1 Mantenimiento de la cepa *Zymomonas mobilis*

La cepa de *Zymomonas mobilis* fue adquirida de la Universidad Nacional san Cristóbal de Huamanga y conservada en el laboratorio de biotecnología de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac se llevó en una refrigeradora a 5°C.

##### 4.5.1.2 Proliferación de cepas la cepa de *Zymomonas mobilis*

Para este procedimiento se utilizaron los medios sugeridos que se muestra en (tabla 9), con la siguiente composición:

**Tabla 9 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta**

Compuesto	Composición (g/L)
Extracto de levadura	0.2
Glucosa	10
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	0.2
Peptona	0.2
NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> 0	0.2
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
Agar extracto de malta	2.0

Se prepararon 100 ml de medio de cultivo enriquecido con un pH 6.5, los componentes de los medios se pesaron en una balanza analítica de la marca OHAUS adventurer, se realizó la dilución y/o la homogenización del medio posteriormente sometió a la esterilización en un auto clave por un periodo de 15 minutos a una presión de 18 PSI.

En vista de ello se retiró el medio enriquecido y luego se prosiguió a transferir inmediatamente a las placas Petri y se esperó que se solidifique a temperatura ambiente y una vez que el medio estuvo solidificado, se realizó el sembrando con la ayuda de una asa bacteriológicamente previamente esterilizada de la cepa *Zymomonas mobilis* y luego se

llevó a la incubadora y se mantuvo en un tiempo de 48 horas a una temperatura constante de 38° C, allí es donde que observo el crecimiento de la cepa *Zymomonas mobilis* y posterior se sometió en refrigeración a 5 °C. (GARCIA, 2012).

#### 4.5.1.3 Conservación de *Zymomonas mobilis*

La cepa se resembró mensualmente y fue conservada en un refrigerador Samsung a una temperatura entre 5°C.

#### 4.5.1.4 Preparación del pre cultivo

Se realizó la preparación del medio a enriquecer en un medio de solución de 100 ml con nutrientes en un matraz de 250 ml en agua destilada y se añadió de acuerdo con las siguientes composiciones:

**Tabla 10 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta**

Compuesto	Composición (g/L)
Extracto de levadura	0.2
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	0.2
Peptona	0.2
$(NH_4)_2 \cdot 3H_2O$	0.2
Glucosa	10
Glucosa	10
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2

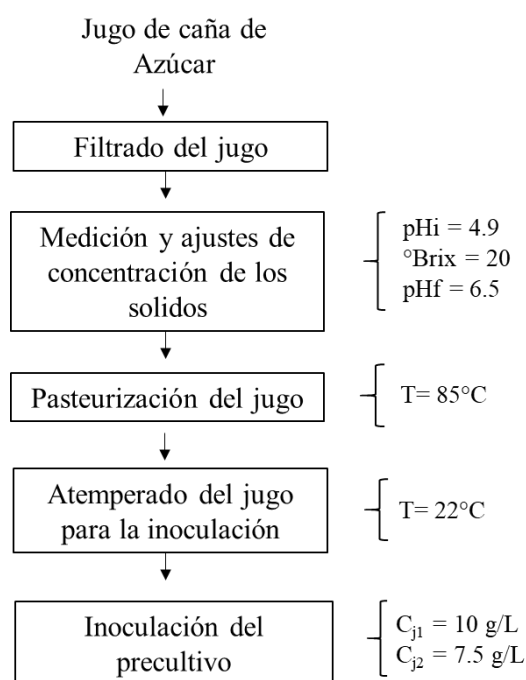
y se prosiguió la homogenización de la solución y luego se ajustó a un PH= 6.5 con hidróxido de sodio a 0.1N y seguidamente se realizó el auto clavado por un tiempo de 15 minutos y a una presión de 18 PSI, una vez culminado el tiempo de auto clavado se prosiguió a temperar (T=22°C), y luego realizo la inoculación de la cepa *Zymomonas mobilis* de las placas petris al contenido del matraz, una vez culminado se sometió a la incubadora a una temperatura constante de 38°C por un tiempo 48 horas, allí es donde que hubo la producción de la biomasa de la cepa *Zymomonas mobilis*, y luego se tuvo que someter a refrigerar (5°C) y de esta manera se frenó el crecimiento de la cepa *Zymomonas mobilis*, luego de todo este proceso el pre - cultivo estuvo listo para realizar la fermentación con las células libre.

#### 4.5.1.5 Determinación de la producción de la biomasa

En este caso se realizó de la obtención de la biomasa de *Zymomonas mobilis* por medio agitación constante a temperatura constante 38 °C en baño María.

#### 4.5.1.6 Preparación del medio de zumo de caña de azúcar para células libres de *Zymomonas mobilis*.

Se realizó la extracción del zumo de jugo de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L., para este fin del proceso se tuvo que buscar la estandarización de la fermentación del medio de del jugo, para mayor detalle especificamos mediante la (Fig. 7).



**Figura 7 — Preparación del medio de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L., para células libres de *Zymomonas mobilis***

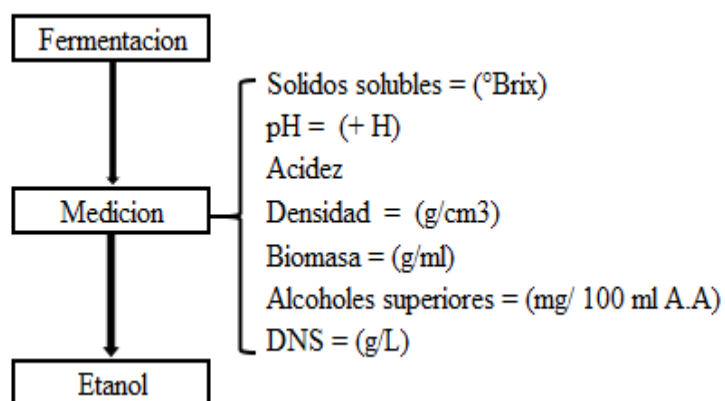
#### 4.5.1.7 Proceso de fermentación

En ésta etapa se llevó a cabo del proceso de fermentación para la obtención y caracterización de etanol con células libres a partir de jugo de Caña de Azúcar *Saccharum officinarum* L., se trabajó en una incubadora acondicionada para tal proceso de fermentacion, cuya la temperatura se mantuvo a constante a 38°C, las muestras se colocaron en baldes fermentadores con cualidades de un bio reactor de capacidad de 1.5 Lts, los sustratos como jugo de caña de azúcar y las concentraciones celulares *Zymomonas mobilis* con que se trabajaron fueron con (10, 20

°Brix) y ( 7.5 y 10 g/L) de inóculo, las cuales se realizó por triplicado todas las fermentaciones por un periodo de tiempo de 60 horas.

#### 4.5.1.8 Obtención y caracterización del etanol

En esta etapa de investigación se realizó un estudio exhaustivo en condiciones controladas del proceso de fermentación del jugo de Caña de Azúcar para la obtención y caracterización de etanol, se analizó todas las muestras rigiéndose bajo las normas técnicas peruanas de las bebidas fermentadas. Como se muestra en la (tabla 10) y posteriormente se realizó las tomas de muestras de los tratamientos de la obtención del etanol producidos célula libre de *Zymomonas mobilis*.



**Figura 8 — Diagrama flujo de caracterización de etanol Análisis fisicoquímicos**

**Tabla 10 — Análisis fisicoquímicos**

Parámetros	Técnica	Según
Acidez total	La técnica A.O.A.C. N° 945-08	(NTP 2006)
pH	se utilizará la técnica A.O.A.C. N° 2	
Alcoholes superiores:	Por el método de picnometría NTP 210.003	(NTP 2006)
Esteres totales	NTP 210-021 ó NTP 211.035	
Aldehídos totales	NTP 211.038 ó NTP 211.035	
Metanol	NTP 210. 0.22 ó NTP 211.035	
Extracto seco	NTP 211. 041	

## ETAPA II

### 4.5.2 Obtención y Caracterización del Etanol con Células Inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*

#### 4.5.2.1 Proliferación de la cepa *Zymomonas mobilis*

Para este procedimiento se utilizaron los medios sugeridos que se muestra en (tabla 11), con la siguiente composición:

**Tabla 11 – Composición del medio del pre cultivo extracto de malta**

Compuesto	Composición (g/L)
Extracto de levadura	0.2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	0.2
Peptona	0.2
NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 3H <sub>2</sub> O	0.2
Glucosa	10
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
Agar extracto de malta	2.0

Se prepararon 100 ml de medio de cultivo enriquecido con un pH 6.5, los componentes de los medios se pesaron en una balanza analítica de la marca OHAUS adventurer, se realizó la dilución y/o la homogenización del medio posteriormente sometió a la esterilización en un autoclave por un periodo de 15 minutos a una presión de 18 PSI, en vista de ello se retiró el medio enriquecido y luego se prosiguió a transferir inmediatamente a las placas Petri y se esperó que se solidifique a temperatura ambiente y una vez que el medio este solidificado, se realizó el sembrando con la ayuda de una asa bacteriológicamente previamente esterilizada de la cepa *Zymomonas mobilis* y luego llevo a la incubadora y se mantuvo en un tiempo de 48 horas a una temperatura constante de 38° C, allí es donde que observo el crecimiento de la cepa *Zymomonas mobilis* y posterior se sometió en refrigeración a 5 °C.

#### 4.5.2.2 Conservación de *Zymomonas mobilis*

La cepa se resembró mensualmente y fue conservada en un refrigerador Samsung a una temperatura entre 5°C por unos 25 días.





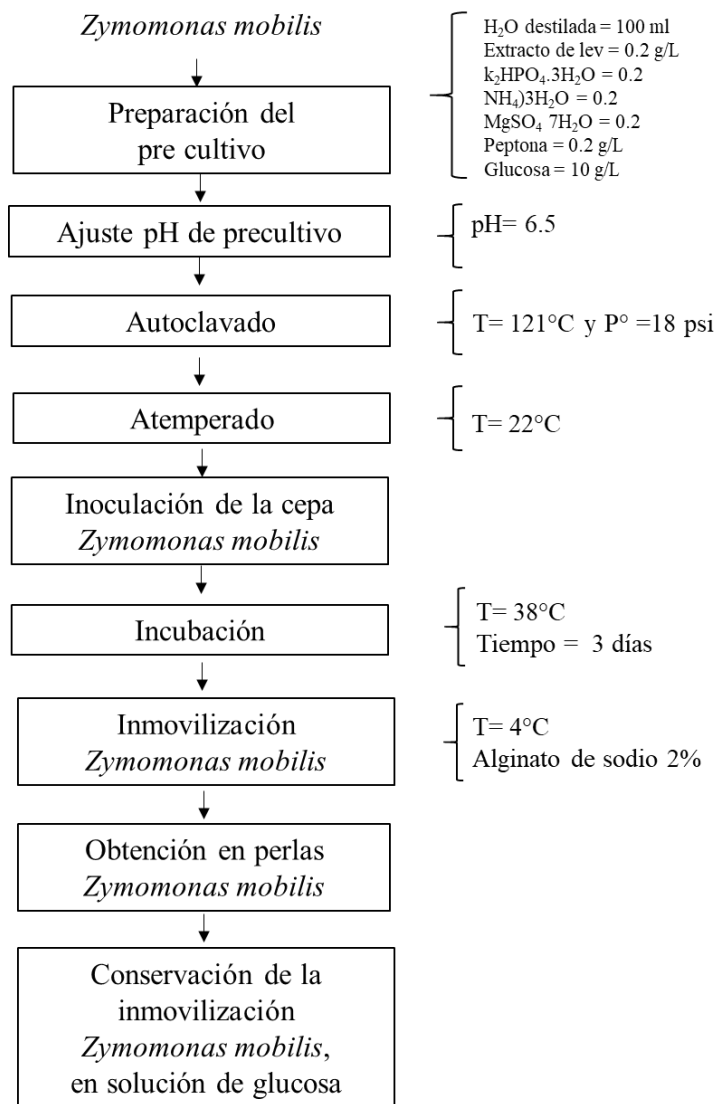
#### 4.5.2.3 Preparación del pre cultivo

Se realizó la preparación del pre cultivo en 100 mL de agua destilada con nutrientes en un matraz de 250 mL y se prosigue a enriquecer el medio de acuerdo con las siguientes composiciones (tabla 12).

**Tabla 12 — Composición del medio del pre cultivo extracto de malta**

Compuesto	Composición (g/L)
Extracto de levadura	0.2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3H <sub>2</sub> O	0.2
Peptona	0.2
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O	0.2
Glucosa	10
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2

y se realizó la homogenización de la solución y luego se ajustó a un PH= 6.5 con hidróxido de sodio a 0.1N y seguidamente se realizó el auto clavado por un tiempo de 15 minutos y a una presión de 18 PSI, una vez culminado el tiempo se realizó el atemperado a medio ambiente (T=22°C), y luego realizo la inoculación de la cepa *Zymomonas mobilis* del contenido del matraz, una vez culminado se sometió a baño María con agitación constante y a una temperatura constante de 38°C por un tiempo 48 horas, allí es donde qué ocurre la producción de la biomasa de la cepa *Zymomonas mobilis*, y luego se retira para transferir a la refrigeración de (5°C) y de esta manera se frena el crecimiento de la cepa (*Zymomonas mobilis*), luego de todo este proceso el pre - cultivo estará listo para realizar la inmovilización GARCIA, (2012).



**Figura 9 — Diagrama de flujo para la inmovilización de la *Zymomonas mobilis***

#### 4.5.2.4 Inmovilización de la célula *Zymomonas mobilis*

Antes de la inmovilización se realizó los siguientes procedimientos:

Se realizó el pesado de 4 gramos de alginato de sodio al 2% en una balanza analítica de la marca OHAUS adventurer y se procedió a añadir 100 ml en agua destilada auto clavada y esterilizada y se mezcló homogéneamente.

Posteriormente también se realizó el pesado de 0.8 gr de cloruro de calcio y se añadió en 100 ml de agua destilada, también se realizó el pesado de 9 gr de cloruro de sodio (sal y/o suero fisiológico) y se realizó la dilución y/o la homogenización en un litro de agua destilada

posteriormente sometió a la esterilización en una autoclave por un periodo de 15 minutos a una presión de 18 PSI.

Además, también se realizó la centrifugación de los 100 ml del pre cultivo en tubo de 14 ml a 5000 rpm por un tiempo de 5 minutos.

Finalmente se retiró los tubos de la centrifuga y se descartó el líquido sobre nadante se prosiguió el lavado con suero fisiológico y la biomasa obtenida de *Zymomonas mobilis* se transfirió a los 100 ml de solución de alginato de sodio y se mezcló homogéneamente.

#### **4.5.2.5 Re suspensión en medio de cultivo**

En esta etapa de se tomó 7.5 gr/L y 10 gr/L de solución alginato de sodio (2%) más la biomasa de *Zymomonas mobilis* en una jeringa y se hizo el re suspensión del medio (gota) al caer en la solución bicloruro de sodio se forma perlas con concentración celular aproximadamente  $1.7 \times 10^9$  gr cel/l por lo cual la biomasa queda inmovilizada *Zymomonas mobilis*.

#### **4.5.2.6 Fermentación jugo de caña de azúcar**

En esta etapa se realizó la estandarización del jugo de caña de azúcar, de 10 °Brix, 20 °Brix con 6.5 pH y se sometió a pasteurizar por un tiempo de 15 minutos después prosiguió a retirar y enfriar el jugo de caña de azúcar a temperatura ambiente.

Después se trasvaso el jugo de caña de azúcar de 10 °Brix, 20 °Brix a los baldes y/o biorreactores debidamente rotulados, es allí donde que se dosifica las perlas de *Zymomonas mobilis* previamente activadas.

Finalmente se procedió a fermentar en una incubadora adecuada temperatura constante 38 °C, por lo cual se realizó las tomas de muestra cada 6 horas para las evaluaciones; es allí donde se observó la curva del consumo del sustrato/tiempo).

Posteriormente, una vez terminada la fermentación, las perlas o células inmovilizadas *Zymomonas mobilis* son recuperadas del fermento y colocadas en una solución de glucosa al 20% y que esta célula inmovilizadas tiene la capacidad de poder ser reutilizado.

La inmovilización se puede definir como el confinamiento físico de las células microbianas en una región definida del espacio con una retención de su actividad catalítica, y que puede ser utilizada repetidamente o en continuo. La tecnología de la inmovilización



celular disminuye la mayoría de los problemas que plantea la fermentación utilizando células libres. Este sistema tiene la ventaja de poder manipular la concentración celular, previa al inicio de la fermentación, además, facilita la operación del proceso de fermentación continua, evitando los pasos de eliminación de células al concluir la fermentación. Por otro lado, las células tienen ciertas ventajas como la estabilización de las funciones biológicas ya que permite la intensificación del proceso SILVA et al., (2019).

#### 4.5.2.7 Análisis de obtención y caracterización del etanol

En esta etapa se realizó un estudio exhaustivo en condiciones controladas de las tomas de muestras en la obtención y caracterización del etanol, bajo las normas técnicas de las bebidas fermentadas de las diferentes concentraciones celulares y del jugo de caña de azúcar ya mencionadas anteriormente (g/l, °Brix).

Posteriormente se realizó la comparación de la fermentación en la obtención y caracterización del etanol producidos por las células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* y se ha determinado de la siguiente manera.

#### Análisis característicos fisicoquímico según normas técnicas.

**Tabla 13 — Análisis característicos fisicoquímico según normas técnicas**

Parámetros	Técnica
Acidez total	(NTP 211.035).
pH	se utilizará la técnica (A.O.A.C. 2000)
Alcoholes superiores	Por el método de picnometría (NTP 211.035)
Ésteres totales	NTP 211.035
Aldehídos totales	NTP 211.035
Metanol	NTP 210. 0.22 ó NTP 211.035
Extracto seco	NTP 211. 041

## 4.6 Técnicas e instrumentos

### 4.6.1 Sólidos solubles

Se tomó las muestras de los diferentes tratamientos de la fermentación de jugo de caña de azúcar de acuerdo a la norma (AOAC, 2000), con algunas modificaciones. Para lo cual en primer lugar se levantó la tapa que cubre objeto de prisma del refractómetro ATAGO y se colocó una gota jugo de caña de azúcar que se encuentra a una temperatura en promedio de 20°C, asegurándose que la superficie del prisma este cubierto con el jugo de caña de azúcar. Seguidamente se cerró la tapa del prisma y se prosiguió a observar en el refractómetro, finalmente se realizó la lectura, el % de azúcar consumido.

### pH

Se tomó la muestra de jugo de caña de azúcar de acuerdo norma (AOAC, 2000), para ello se colocó la muestra de jugo de caña de azúcar en un vaso de precipitado de 25 y 30 mL y se calibró el pH-metro con solución buffer de 4.00 a 7.00 y se introdujo el electrodo en la muestra a analizar cuya temperatura debe estar programada entre 20 - 25° C y se leyó el valor del pH.

### Densidad relativa

Se realizó la toma de las muestras densidad relativa de los tratamientos de jugo de caña de azúcar y se determinó por densitometría de acuerdo al método propuesto por (IAL 2008), utilizando un picnómetro de 20 mL con termómetro, inicialmente se pesó el picnómetro vacío (previamente lavado con alcohol absoluto y secado de forma natural) y luego se completó su volumen con agua destilada y se pesó y se tomó la lectura luego se descartó el contenido y cuidando de secó la condensación en la superficie de la cristalería, después se procedió al pesaje del picnómetro que contenía la muestra jugo de caña fermentado. El cálculo de la densidad relativa se realizó de acuerdo con la (ecuación 1).

$$\text{Densidade relativa a } 20^{\circ}\text{C (g/ mL)} = (M_j - M_{pic}) / (M_a - M_{pic}) \dots \dots \dots ec (1)$$

Dónde:  $M_j$  = Masa del picnómetro con jugo,  $M_a$  = Masa del picnómetro con a agua destilada y  $M_{pic}$  = Masa del picnómetro vacío.

### Acidez titulable

Se adoptó el método descrito por (IAL 2008), donde se pipetearon 10 mL de muestra de la muestra de jugo de caña en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 100 mL de agua destilada y 4 gotas de fenolftaleína. La muestra se tituló con una solución estandarizada de NaOH 0.1 N hasta que apareció la viración de un color rosa persistente. Los resultados se obtuvieron de acuerdo con la (ecuación 2) y se expresó como meq/L.

$$\text{Acidez titulable (meq/ L)} = n \times f \times N / v \times 100 \dots \dots \dots ec (2)$$



Dónde: n Volumen en mL de solución de NaOH gastado en la titulación; f = factor de corrección de la solución de NaOH; N = Normalidad de la solución de NaOH; v = Volumen de la muestra.

### **Grado alcohólico**

Para el análisis de esta variable se adoptó el método descrito por (IAL, 2008), donde inicialmente se vertió en un matraz aforado 100 mL de jugo de caña de azúcar previamente ajustado a una temperatura de 20 °C. El contenido del matraz aforado se transfirió a un matraz de destilación, lavando el residuo del matraz aforado cuatro veces con pequeñas porciones de agua destilada. Luego se procedió con la destilación de la muestra. El destilado se recogió en una probeta graduada de 100mL hasta un volumen aproximado de 75 mL y se determinó la densidad relativa del destilado a 20 ° C, utilizando un alcoholímetro y el resultado del grado alcohólico se obtuvo a partir de interpolaciones de valores tabulados que relacionan la densidad relativa del destilado con el grado alcohólico a 20 °C (% v / v).

### **Extracto seco**

Se utilizó método gravimétrico, basado en la evaporación y secado de la muestra en una estufa, según la norma (IAL 2008). Para ello inicialmente se preparó una alícuota de 20 mL del fermento de jugo de caña de azúcar y se transfirió a las placas Petri debidamente pesada de cada uno de los tratamientos, la muestra se evaporó en una estufa a 40 °C durante 12 horas, luego se enfriaron en un desecador y se pesaron, repitiendo estos procedimientos hasta peso constante. El cálculo del resultado se expresó según la (ecuación 3).

$$\text{Extracto seco total (g/ L)} = (P'/P) \times 100 \dots \dots \dots \text{ec (3)}$$

Donde:

P' = peso en gramos de la muestra después de la desecación.

P = peso en gramos de la muestra antes de la desecación.

### **Azúcares reductores (DNS)**

La determinación de azúcares reductores se realizó mediante el método espectrofotométrico descrito por (MILLER, 1959). Primero, la muestra se diluyó convenientemente en agua destilada y luego se pipeteó una alícuota de 1 mL de la dilución en un tubo de ensayo junto con 1 mL de la solución de DNS; la mezcla se homogeneizó en un mezclador de vértice y se sometió a un baño de agua hirviendo durante 5 min. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se enfrió y se le añadió 8 mL de agua destilada. La absorbancia se leyó a 540 nm, usando un blanco con agua y DNS, en un espectrofotómetro. Se construyó una curva de glucosa estándar (R2 = 0,9998). Los resultados se expresaron en g/L de jugo de caña de azúcar.



#### 4.6.2 Materiales reactivos

Materiales reactivos y equipos de obtención y caracterización de etanol con células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*.

#### 4.6.3 Reactivos e Insumos:

- Hidróxido de sodio al (0.1N).
- Peptona.
- Extracto de levadura (0.5 %).
- Agar extracto de malta.
- Glucosa (2%).
- Acido 3,5-dinitrosalicílico (DNS).
- Fenolftaleína.
- Bicloruro de calcio
- Alginato de sodio (2%).
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.1%
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%

#### Material de investigación

##### materia prima

- Jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L.
- Bacteria gram (-) *Zymomonas mobilis*.

##### Equipos

- Picnómetro.
- Balanza analítica.
- Refractómetro.
- Mechero bunsen.
- Centrifuga.
- Estufa.
- Autoclave.
- Incubadora.
- Potenciómetro.
- Papel tolla (Marca: Elite)
- Probeta (100 mL).
- Vaso precipitado (250mL).
- Balde biorreactor (1.5 Lts).

#### 4.7 Análisis estadístico

Se realizó con diseño completamente al azar DCA con arreglo y arreglo factorial  $2^3$  con 3 factores en estudio: concentración de jugo de caña, *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas proporciones con dos niveles cada uno, haciendo un total de 8 tratamientos con 3 repeticiones hacen un total de 24 observaciones para evaluar las características de calidad y el rendimiento del etanol obtenido.

El modelo estadístico está expresado por la siguiente ecuación:

$$y_i = \mu + \alpha_i + +\epsilon_i$$



Donde  $y$ , es la variable de respuesta;  $\mu$ , es la media general,  $\alpha_i$  es el efecto de los tratamientos y  $\epsilon_{ijk}$ , es el error experimental.

#### 4.8 Técnicas Estadísticas

Para el análisis de los resultados se utilizó pruebas estadísticas de procesamiento de datos como análisis de varianza ANOVA y comparación de medias por Tukey (estadísticamente significativos:  $(p < 0.05)$ ), además se utilizan algunos paquetes estadísticos como MICROSOFT EXCEL e INFOSTAD, BALZARINI et al. (2011), que ayudo a que los resultados sean más comprensibles.

##### 4.8.1 Hipótesis Estadísticas

###### **Hipótesis estadísticas (nula y alterna)**

###### **Hipótesis nula**

La concentración de jugo de caña de azúcar, la proporción del inóculo y el estado de las células libres e inmovilizada de *Zymomonas mobilis*, no influyen en la obtención de etanol y sus características.

###### **Hipótesis alterna**

La concentración de jugo de caña de azúcar, la proporción del inóculo y el estado de las células libres e inmovilizada de *Zymomonas mobilis*, influyen en la obtención de etanol y sus características.

###### **Nivel de significancia**

El nivel de significancia es de  $\alpha=0.05$ .

###### **Región crítica o regla de decisión**

Si  $p>0.05$ : entonces no existe el efecto de los factores en estudio sobre las medias de las variables de respuesta; entonces se acepta la hipótesis nula.

Si  $p<0.05$ : entonces sí existe el efecto de los factores en estudio sobre las medias de las variables de respuesta; entonces se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alterna.





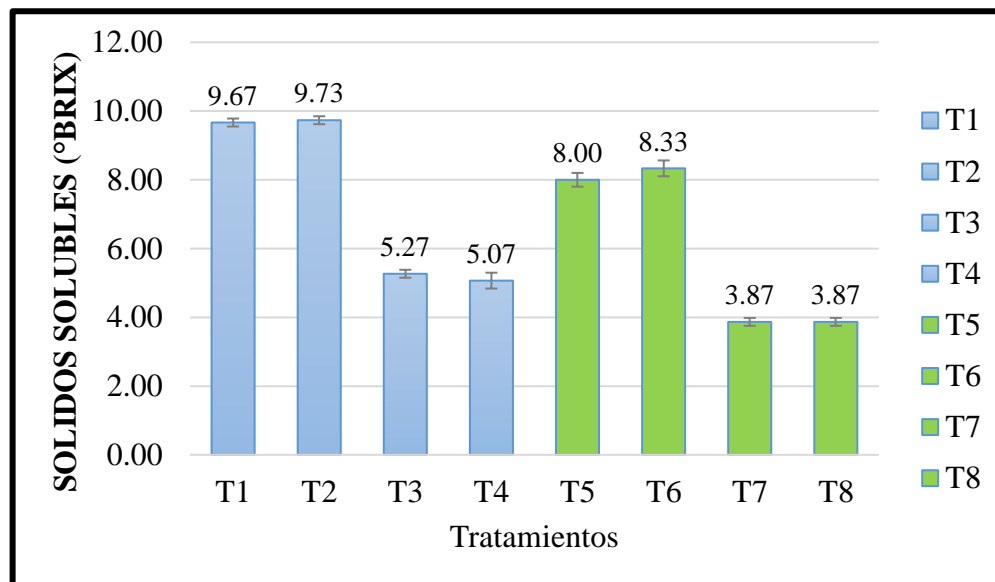
## CAPÍTULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 5.1 Resultados de las características fisicoquímicas del etanol

##### 5.1.1 Sólidos solubles (°Brix)

En la figura 10 se presenta los resultados de la evaluación de los sólidos solubles (°Brix) de la fermentación de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados en 60 horas de fermentación de acuerdo a los tratamientos indicados en la Tabla 8, del T1 con concentración celular de 7.5 g/L de *Zymomonas mobilis* inmovilizadas y con concentración de jugo de caña de azúcar a 20 °Brix, y el T4 con concentración celular de 10 g/L de *Z. mobilis* inmovilizadas con concentración de jugo de caña de azúcar a 10 °Brix y se trata de las células inmovilizadas y del T5 con concentración celular de 7.5 g/L de *Zymomonas mobilis* inmovilizadas y con concentración de jugo de caña de azúcar a 20 °Brix, al T8 con concentración celular de 10 g/L de *Zymomonas mobilis* células libres, con concentración de jugo de caña de azúcar a 10 °Brix que se trata de células libres.



**Figura 10 — Sólidos soluble (°Brix) al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza de los sólidos solubles (Tabla 14), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 14— Análisis de varianza para sólidos solubles**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	120.4	7	18.49	693.21	< 0.0001
Tratamiento	129.4	7	18.49	693.21	< 0.0001
Error	0.43	16	0.03		
TOTAL	129.83	23			

Por lo que se procedió hacer o realizar las comparaciones de medias por Tukey (Tabla 15) en donde se aprecia la formación de cuatro grupos estadísticamente iguales, observando que los T2 y T1 de células Inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, seguidos de T6 y T5 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron los mayores valores de sólidos solubles de sólidos solubles (°Brix), y los otros tratamientos tuvieron menores de sólidos solubles.

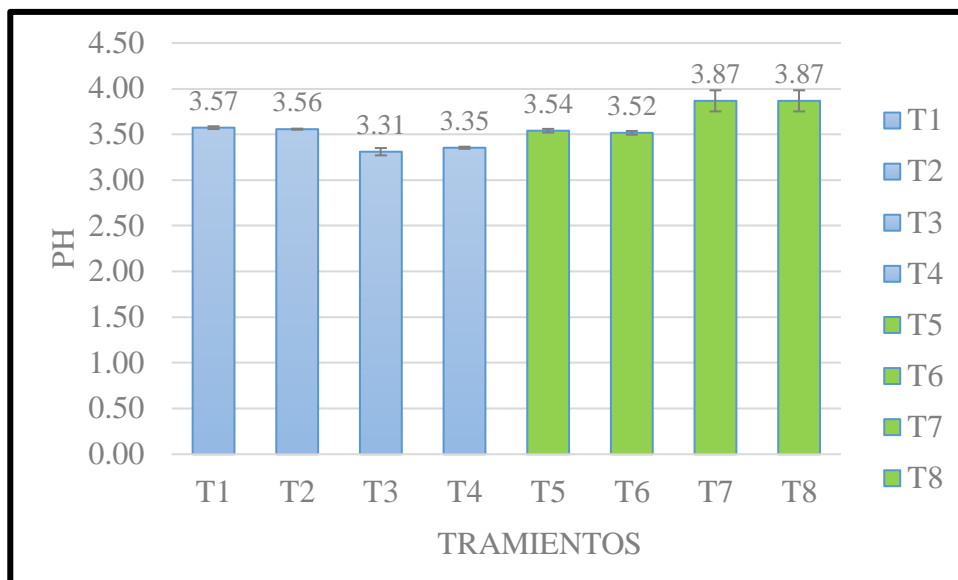
**Tabla 15 — Prueba de Tukey, para sólidos solubles**

Tratamiento	Medias	
T2	9.73	A
T1	9.67	A
T6	8.33	B
T5	8.00	B
T3	5.27	C
T4	5.07	C
T8	3.87	D
T7	3.87	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.2 pH

En la Figura 11 se presenta los resultados de la evaluación de pH en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 11 — Comportamiento de pH al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza del pH (Tabla 16), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 16 — Análisis de varianza para pH**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	0.88	7	0.13	34.22	< 0.0001
Tratamiento	0.88	7	0.13	34.22	< 0.0001
Error	0.66	16	3.70E-03		
TOTAL	0.94	23			

Por lo que se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 17) en donde se aprecia la formación de cuatro grupos; observa que los T7, T8 de células libres de *Zymomonas mobilis* que representaron contenidos de mayores de pH, mientras en los demás tratamientos tuvieron menores valores.

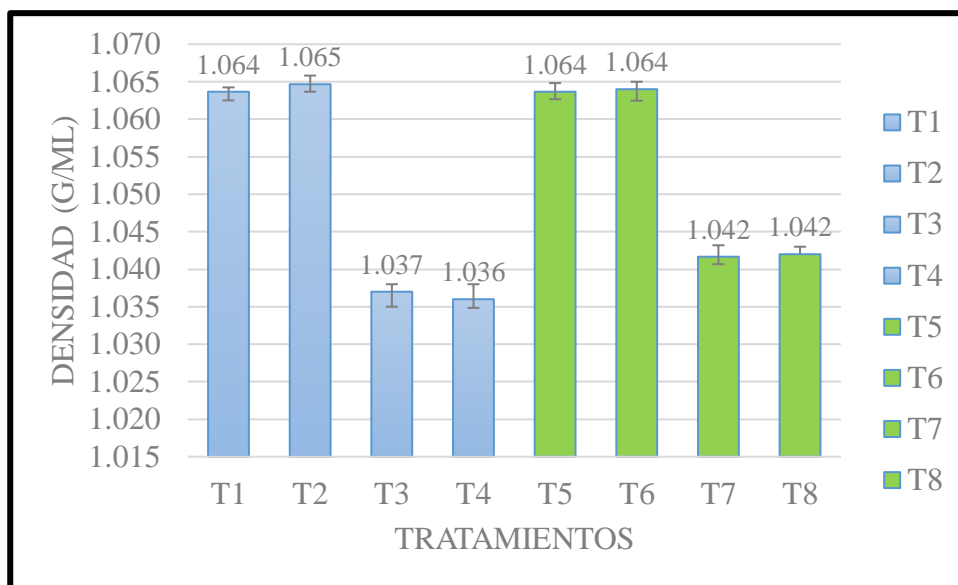
**Tabla 1 — Prueba de Tukey**

Tratamiento	Medias	
<b>T7</b>	3.87	A
<b>T8</b>	3.87	A
<b>T1</b>	3.57	B
<b>T2</b>	3.56	B
<b>T5</b>	3.54	B
<b>T6</b>	3.52	B C
<b>T4</b>	3.35	C D
<b>T3</b>	3.31	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.3 Densidad

En la figura 12 se presenta los resultados de la evaluación de densidad en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 12 — Comportamiento de densidad al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza de las densidades (Tabla 18), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 18 — Análisis de varianza para densidad**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	3.8E-03	7	5.4E-04	351.12	< 0.0001
Tratamiento	3.8E-03	7	5.4E-04	351.12	< 0.0001
Error	2.5E-05	16	1.5E-06		
TOTAL	3.8E-03	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (tabla 19), en donde se aprecia la formación de tres grupos; observándose que los tratamientos T2, T6, y los T1 y T5 de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayores densidades de 1.064 y 1.065 (g/ml) mientras que los demás tratamientos tuvieron menores densidades.

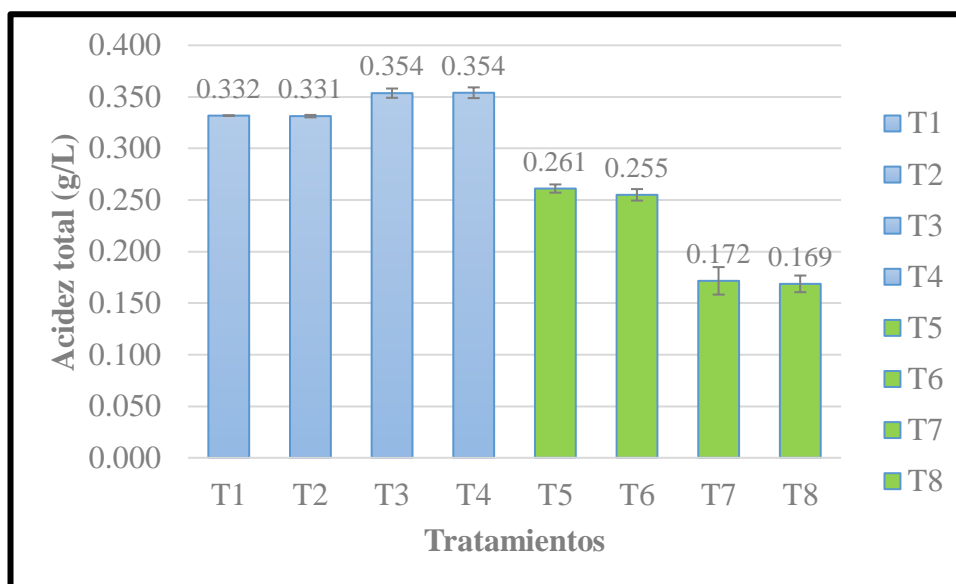
**Tabla 2 — Prueba de Tukey para densidad**

Tratamiento	Medias	
T2	1.06	A
T6	1.06	A
T1	1.06	A
T5	1.06	A
T8	1.04	B
T7	1.04	B
T3	1.04	C
T4	1.04	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.4 Acidez total

En la figura 13 se presenta los resultados de la evaluación de acidez total en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L). en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 13 — Comportamiento de acidez total al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza para acidez total (Tabla 20), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 3 — Análisis de varianza para acidez total**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	0.12	7	0.02	418.92	< 0.0001
Tratamiento	0.12	7	0.02	418.92	< 0.0001
Error	6.8E-04	16	4.2E-05		
TOTAL	0.12	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 21), en donde se aprecia la formación de cuatro grupos; observándose que los tratamientos T4, y T3 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayores densidades de 1.064 y 1.065 (g/ml) mientras que los demás tratamientos tuvieron menores acidez total.

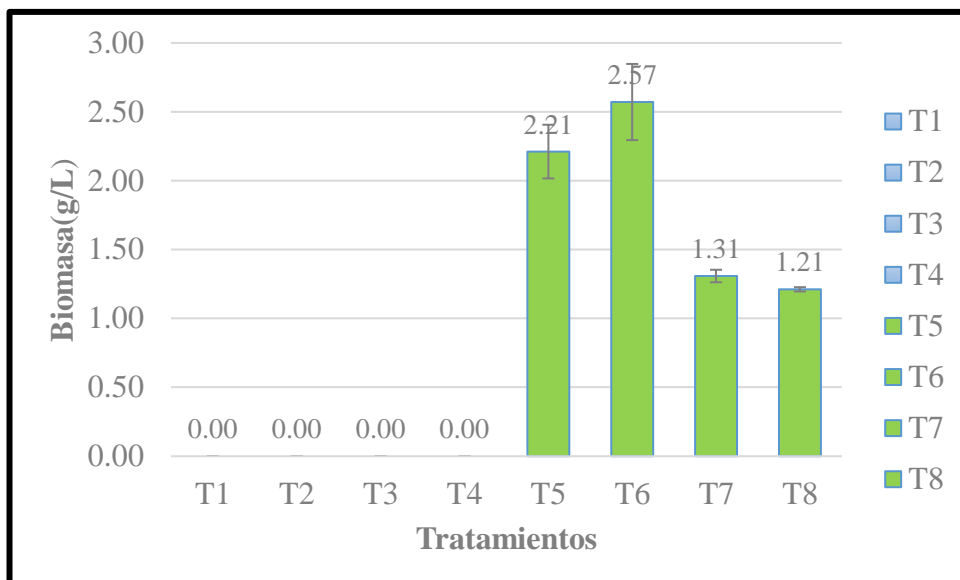
**Tabla 21 — Prueba de Tukey para acidez total**

Tratamiento	Medias		
T4	0.35	A	
T3	0.35	A	
T1	0.33	B	
T2	0.33	B	
T5	0.26		C
T6	0.26		C
T7	0.17		D
T8	0.17		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.5 Biomasa

En la figura 14 se presenta los resultados de la evaluación de biomasa en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 14 — Incremento promedio de la biomasa al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza para biomasa (Tabla 22), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 22 — Análisis de varianza para biomasa**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	24.05	7	3.44	235.37	< 0.0001
Tratamiento	24.05	7	3.44	235.37	< 0.0001
Error	0.23	16	0.01		
TOTAL	24.28	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 23), en donde se aprecia la formación de tres grupos, observándose que los T6 y T5 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayor producción de biomasa en el T6 con 2.57 (g/L) y el T5 con 2.21 (g/L) y mientras que los demás tratamientos presentaron con de producción de biomasa. Pero teniendo en cuenta que no hubo producción de biomasa en células inmovilizadas *Zymomonas mobilis*.

Tabla 43 — Prueba de Tukey para los resultados de biomasa

Tratamiento	Medias	
T6	2.57	A
T5	2.21	B
T7	1.31	C
T8	1.21	C
T4	0.00	D
T2	0.00	D
T1	0.00	D
T3	0.00	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.6 Azúcares reductores (DNS)

En la figura 15 se exponen los resultados de los ensayos espectrofotométricos de la evaluación de azúcares reductores (g/L), (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.

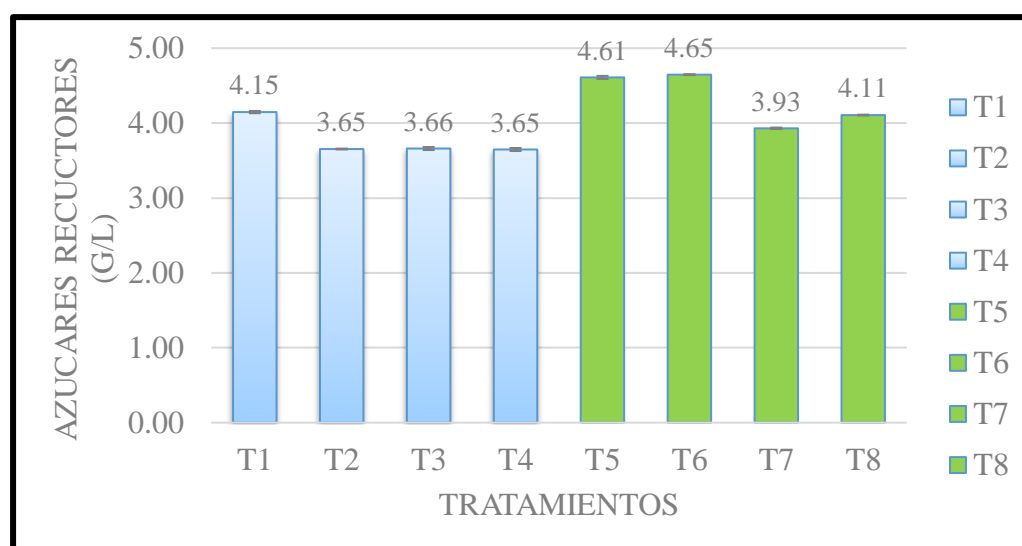


Figura 15 — Valores obtenidos en el contenido de azúcares reductores al final de la fermentación

De acuerdo al análisis de varianza para azúcares reductores (g/L) (Tabla 19), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) en la obtención de etanol al final de la fermentación.



**Tabla 54 — Análisis de varianza para azúcares reductores**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	3.51	7	0.5	2732.00	< 0.0001
Tratamiento	3.51	7	0.5	2732.00	< 0.0001
Error	2.9E-03	16	1.8E-04		
TOTAL	3.51	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 25), en donde se aprecia la formación de cinco grupos, observándose que los T5 y T6 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayor contenido de azúcares reductores con 4.65 a 4.61 (g/L) mientras en los demás tratamientos presento menor contenido en azúcares reductores.

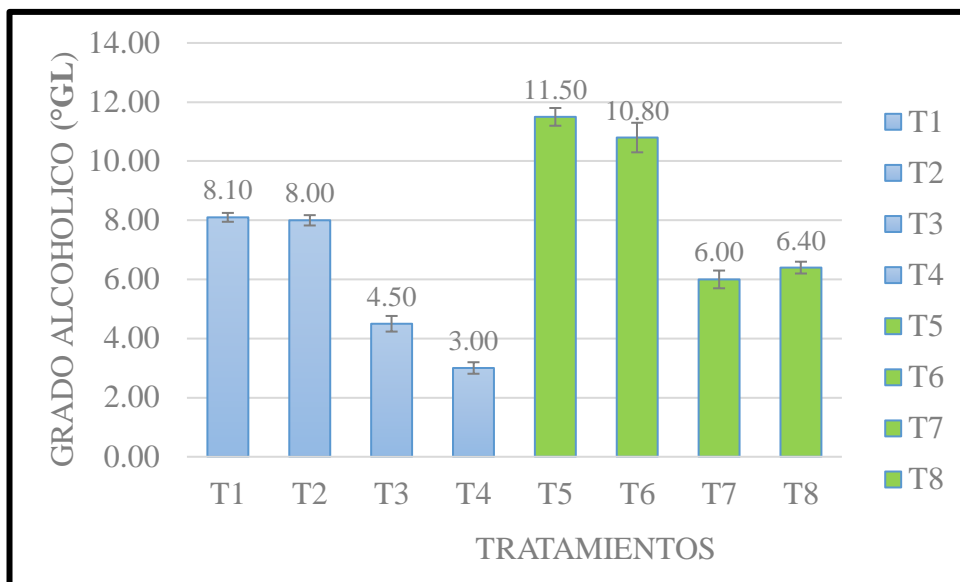
**Tabla 25 — Prueba de Tukey, para los resultados de azúcares reductores, al final de la fermentación**

Tratamiento	Medias	
T6	4.65	A
T5	4.61	A
T1	4.15	B
T8	4.11	C
T7	3.93	D
T3	3.66	E
T2	3.65	E
T4	3.65	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.7 Grado alcohólico

En la figura 16 se presenta los resultados de la evaluación de los grados alcohólico en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 16 — Grado alcohólico al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza de los grados alcohólicos (°GL) (Tabla 26), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 26 — Análisis de varianza para grados alcohólicos**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	182.01	7	26.00	314.73	< 0.0001
Tratamiento	182.01	7	26.00	314.73	< 0.0001
Error	1.32	16	0.01		
TOTAL	183.34	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 27), en donde se aprecia la formación de cinco grupos, observándose que los T5 y T6 de lulas libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayores grados alcohólicos de 11.60 y 10.80 °GL. Mientras los otros tratamientos tuvieron menores grados alcohólicos.



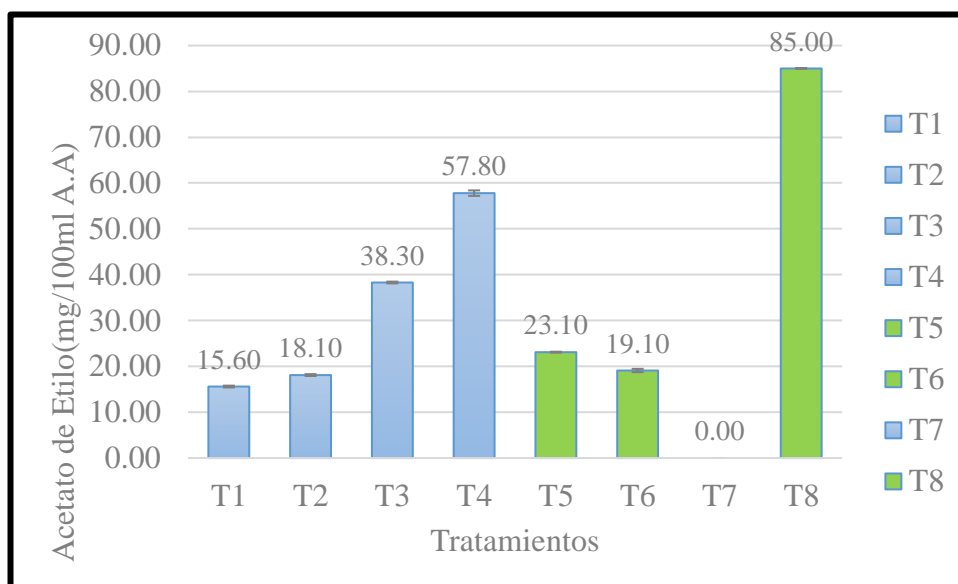
**Tabla 67 — Prueba de Tukey para grados alcohólicos**

<i>Tratamiento</i>	<i>Medias</i>	.
T5	11.60	A
T6	10.80	A
T1	8.10	B
T2	8.00	B
T8	6.40	C
T7	6.00	C
T3	4.50	D
T4	3.00	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.8 Esteres como Acetato de etilo

En la figura 17 se presenta los resultados de la evaluación de Esteres como Acetato de etilo (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 17 — Esteres como Acetato de etilo al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza de Acetato de etilo (Tabla 28), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 28 — Análisis de varianza para ésteres como acetato de etilo**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	15737.99	7	2248.28	28549.63	< 0.0001
Tratamiento	15739.99	7	2248.28	28549.63	< 0.0001
Error	1.26	16	0.08		
TOTAL	15739.25	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 29), en donde se aprecia la formación de ocho grupos observándose que el T8 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron mayor contenido de acetato de etilo T8 85.00 (mg/100 ml A.A) y mientras con los otros tratamientos tuvieron menor contenido de acetato de etilo.

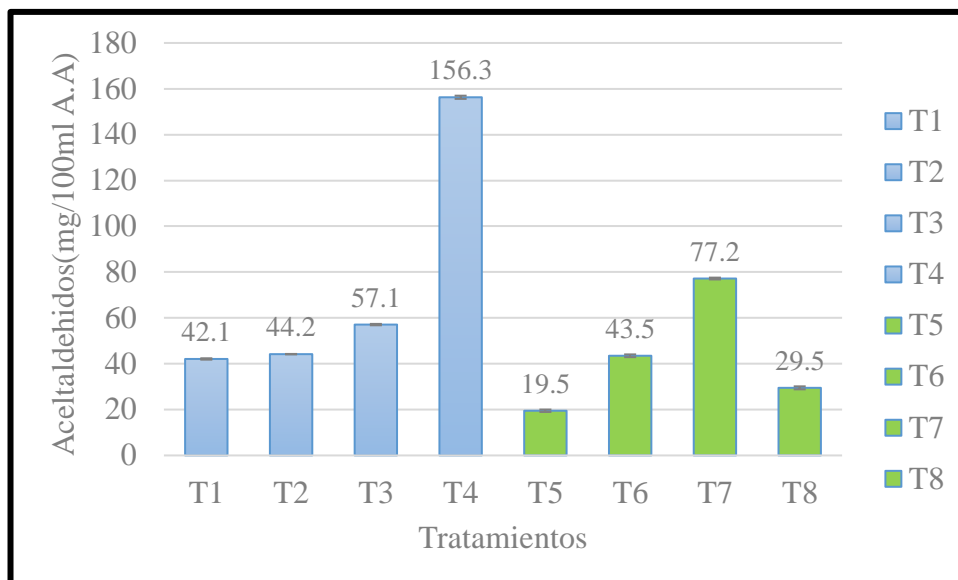
**Tabla 29 — Prueba de Tukey para ésteres como acetato de etilo**

Tratamiento	Medias	
T8	85.00	A
T4	57.80	B
T3	38.30	C
T5	23.10	D
T6	19.10	E
T2	18.10	F
T1	15.60	G
T7	0.00	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.9 Acetaldehídos

En la figura 18 se presenta los resultados de la evaluación de acetaldehídos (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L). en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 18 — Valores obtenidos en el contenido de acetaldehídos al final de la fermentacion**

De acuerdo al análisis de varianza para aceltadehido (Tabla 30), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) para la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 30 — Análisis de varianza para acetaldehído**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	38930.0	7	5561.44	23293.99	< 0.0001
Tratamiento	38930.0	7	5561.44	23293.99	< 0.0001
Error	9	16	0.24		
TOTAL	38933.9	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 31), en donde se aprecia la formación de siete grupos, observándose que los T4 de células inmobilizadas de *Zymomonas mobilis* que presento mayor contenido Acetaldehídos T4 de 156.30 (mg/100 ml A.A) mientras que los demás tratamientos tuvieron menor contenido de acetaldehído.

Tabla 71 — Prueba de Tukey para acetaldehído

Tratamiento	Medias	
T4	156.30	A
T7	77.20	B
T3	57.10	C
T2	44.20	D
T6	43.50	D
T1	42.10	E
T8	29.50	F
T5	19.50	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.10 Iso butanol

En la figura 19 se exponen los resultados de los ensayos cromatográficos en la evaluación de Iso butanol (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L). en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.

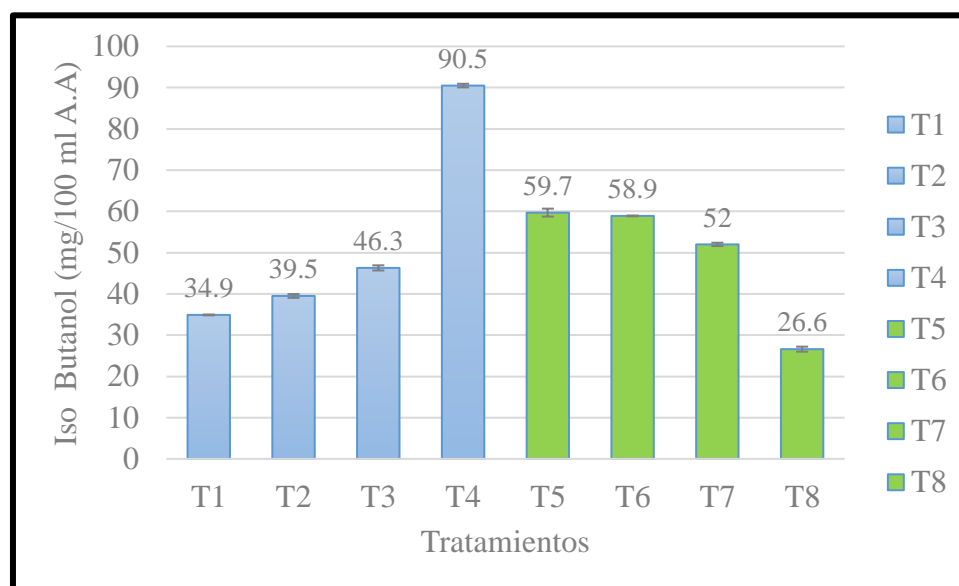


Figura 19 — Valores obtenidos en el contenido de Iso butanol al final de la fermentación

De acuerdo al análisis de varianza para Iso butanol (Tabla 32), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) en la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 82 — Análisis de varianza para Iso butanol**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	8124.72	7	1160.67	4090.48	< 0.0001
Tratamiento	8124.72	7	1160.67	4090.48	< 0.0001
Error	4.54	16	0.28		
TOTAL	8129.26	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 33), en donde se aprecia la formación de siete grupos, se observó que el T4 de células libres de *Zymomonas mobilis* tuvo mayor contenido de Iso butanol con 90.50 (mg/100 ml A.A) y mientras que los demás tratamientos tuvieron menores contenido de Iso butanol.

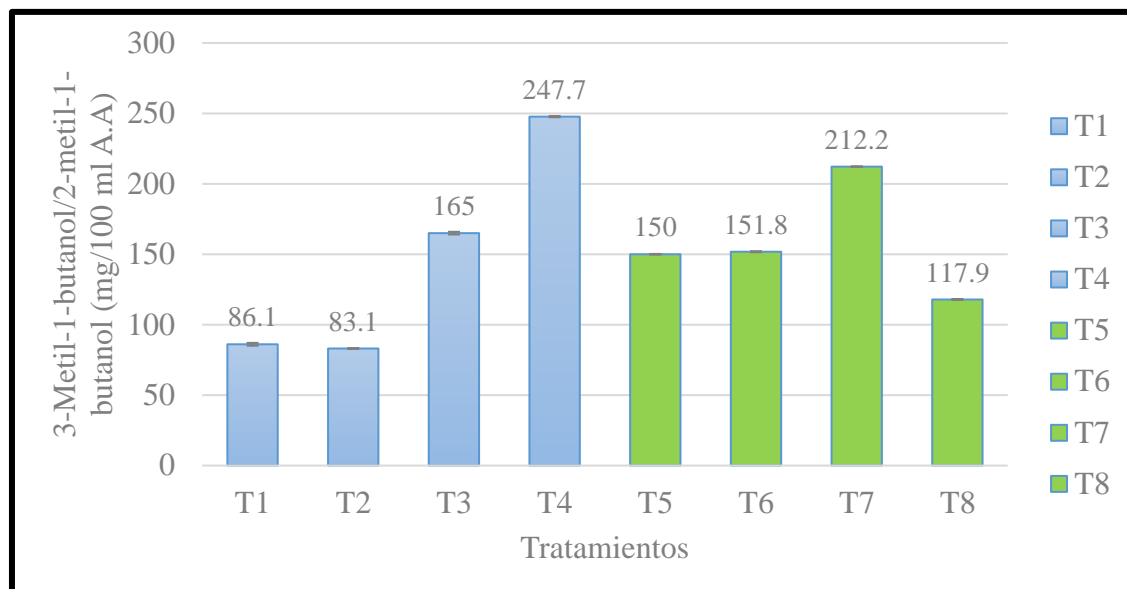
**Tabla 33 — Prueba de Tukey de Iso butanol**

Tratamiento	Medias	
T4	90.50	A
T5	59.70	B
T6	58.90	B
T7	52.00	C
T3	46.30	D
T2	39.50	E
T1	34.90	F
T8	26.60	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.11 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol

En la figura 20 se exponen los resultados de los ensayos cromatográficos de la evaluación de 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 20 — Valores obtenidos en el contenido de 3-metil-1-butanol /2-metil butanol al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza para 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol (Tabla 35), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) en la obtención de etanol al final de la fermentación.

**Tabla 34 — Análisis de varianza para 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	69623.39	7	9946.20	31955.66	< 0.0001
Tratamiento	69623.39	7	9946.20	31955.66	< 0.0001
Error	4.98	16	0.31		
TOTAL	69628.23	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 35), en donde se aprecia la formación de ocho grupos, observándose que 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol que presento en el T4 de células libres de *Zymomonas mobilis* es de 247.70 (mg/100 ml A.A) mientras que los demás tratamientos tuvieron menores contenido de 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol.



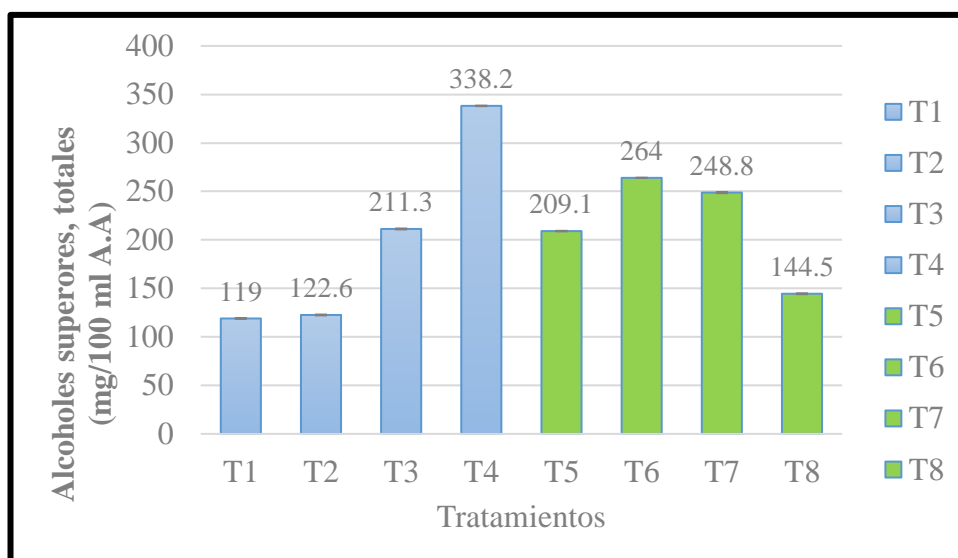
**Tabla 95 — Prueba de Tukey, para los resultados de 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol**

<i>Tratamiento</i>	<i>Medias</i>	
T4	247.70	A
T7	212.20	B
T3	165.00	C
T6	151.80	D
T5	150.00	E
T8	117.90	F
T1	86.10	G
T2	83.10	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

### 5.1.12 Alcoholes superiores

En la figura 21 se exponen los resultados de los ensayos cromatográficos de la evaluación de alcoholes superiores (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, evaluados al final de la fermentación.



**Figura 21 — Valores obtenidos en el contenido de alcoholes superiores al final de la fermentación**

De acuerdo al análisis de varianza para alcoholes superiores (Tabla 36), se observa que si existe diferencias significativas entre los tratamientos donde ( $p < 0.05$ ) en la obtención de etanol al final de la fermentación.



**Tabla 36 — Análisis de varianza para alcoholes superiores**

F.V	SC	GL	CM	F	P - Valor
Modelo	123017.73	7	17573.96	119145.50	< 0.0001
Tratamiento	123017.73	7	17573.96	119145.50	< 0.0001
Error	2.36	16	0.15		
TOTAL	123020.09	23			

Por lo cual se procedió a realizar las comparaciones de medias de Tukey (Tabla 37), en donde se aprecia la formación de ocho grupos, observándose que el T4 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presento mayor contenido de alcoholes superiores con 338.20 (mg/100 ml A.A), mientras que los demás tratamientos tuvieron menores contenido alcoholes superiores.

**Tabla 37 — Prueba de Tukey, de alcoholes superiores**

Tratamiento	Medias	
T4	338.20	A
T6	264.00	B
T7	248.80	C
T3	211.30	D
T5	209.10	E
T8	144.50	F
T2	122.60	G
T1	119.00	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

## 5.2 Contrastación de hipótesis

Realizando un análisis de cada uno de los factores de respuesta evaluados se tiene lo siguiente:

Se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos; con respecto al contenido de sólidos solubles (°Brix), pH, densidad (g/L), acidez, biomasa, azúcares reductores (g/L), grado alcohólico (°GL), acetato de etilo, esterres, acetaldehído, Iso butanol, 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol, alcoholes superiores (mg/100 ml A.A) donde  $p < 0.05$ , por lo que se rechaza la hipótesis nula; lo que implica que si existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, al final de la fermentación.

## 5.2.1 Discusión de resultados

### 5.2.1.1 Sólidos solubles (°Brix)

Durante la evaluación en el proceso de fermentación de los sólidos solubles de 20 a 10 °Brix en la obtención de a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. La disminución de los sólidos solubles está directamente relacionada con el consumo del sustrato de jugo de caña de azúcar por acción de las bacterias *Zymomonas mobilis*, en ausencia de oxígeno dividen las moléculas de azúcar en dos partes; gas carbónico y etanol, aumentando así el etanol presente en el medio y disminuyendo el contenido de azúcares mostrando una diferencia marcada con el tipo de *Zymomonas mobilis* empleada en el proceso de fermentación (ESCOBEDO, 1990).

En un estudio de fermentación con *Zymomonas mobilis* se observa que desde las primeras 12 horas el consumo de los sólidos solubles va aumentando de manera considerable, debido a que la bacteria está utilizando los azúcares y demás sólidos solubles para su crecimiento (BALON, 2009).

En un estudio de fermentación de melaza de caña de azúcar, para la producción de bioetanol con *Zymomonas mobilis*, se evaluaron diferentes concentraciones de sustrato de caña de azúcar en el que observo que valores de 16 g/100 mL presento mayor producción de etanol (8.9 % v/v) y este se va reduciendo a menor concentración de solidos soluble (KHOJA et al., 2018).

De acuerdo a nuestros resultados y al análisis estadístico se aprecian diferencias estadísticas y los tratamientos T2 y T1 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, seguidos de T6 y T5 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron los mayores valores de solidos al final de la fermentación; justamente son los tratamientos que iniciaron con una concentración de 20 °Brix de jugo de caña, es decir que hasta el final de la fermentación mantuvieron el valor alto, lo que nos indica que este factor influyo más que la inmovilización y la proporción de la células libres o inmovilizadas.



### 5.2.1.2 pH

Al observar el proceso de fermentación de los análisis de 6.4 de pH al inicio de fermentación para la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C.

Otro parámetro de gran relevancia es el pH, ya que este afecta la actividad enzimática y la velocidad de crecimiento, sin embargo, durante el proceso de digestión anaerobia éste puede variar, según la naturaleza de la fuente de nitrógeno. Es decir, si es amonio los iones de hidrógeno son liberados en el medio provocando que el pH disminuya y si la fuente de nitrógeno es nitrato, los iones de hidrógeno son removidos del medio lo que resulta en un incremento del pH, por tal motivo se debe controlar el pH durante la fermentación a través de la adición de sustratos CONSTANZA et al. (2015).

En un estudio de fermentación de melaza de caña de azúcar, para la producción de bioetanol con *Zymomonas mobilis*, se evaluaron diferentes pHs en el que observo que valores de pH entre 4.6 – 4.8 presento mayor producción de etanol (7.7-7.9 % v/v) y este se va reduciendo o limitando a medida que el pH (5.6-5.8) suba a más alcalinos KHOJA et al., (2018). Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación hubo una considerable reducción del pH (alrededor de 3), encontrando diferencias estadísticas, teniendo valores ligeramente mayores con los T7 y T8 de células libres y los T1 y T2 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, pero en general casi todos los tratamientos tuvieron valores cercanos con lo que no se puede apreciar que algún factor en estudio influyeran directamente, al parecer más que todo fue el mismo metabolismo de las bacterias que genero metabolitos para que influyera en la reducción del pH; tal como se observó en un estudio de fermentación con *Zymomonas mobilis* libres mostrando que en las primeras 12 horas de la fermentación el pH se mantiene constante debido a que el microorganismo está un proceso de adaptación a las condiciones del medio, sin embargo, a las 24 y 36 horas el pH disminuye de 7 a 5,6 y 5,8 respectivamente, debido al aumento en el metabolismo bacteriano y producción de metabolitos BALON, (2009).



### 5.2.1.3 Densidad

Se observó en proceso de fermentación de la densidad al inicio fue de 1.112 a 1.074 y 1.105 a 1072 (g/mL) en la obtención de obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. De acuerdo a nuestros resultados y al análisis estadístico se aprecian diferencias estadísticas y los T2 y T1 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, T6 y T5 de células libres de *Zymomonas mobilis* que presentaron valores mayores de densidad al final de la fermentación; justamente son los tratamientos que iniciaron la fermentación con una concentración de 20 °Brix de jugo de caña, a diferencia de los tratamientos con una concentración de 10°Brix de jugo de caña; lo que nos indica que este factor influyo más que la inmovilización y que la proporción de la células libres o inmovilizadas.

### 5.2.1.4 Acidez total

De la misma forma se observó el proceso de fermentación del jugo de caña de azúcar que al inicio la acidez total fue 0.074 a 0.062 y 0.062 a 0.051 (g/L) en la obtención de obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo valores más altos, con los T4, T3, T1, T2 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*, con resultados de 0.332 a 0.331 y 0.354 (g/L) lo que nos indica que el factor de la inmovilización influyó directamente en el incremento de acidez, al parecer las células al estar inmovilizadas se concentraron en producir más metabolitos que incrementen la acidez total. Estos resultados también indican que todas las bebidas tuvieron una acidez adecuada ya que se encuentran dentro de los límites establecidos en la NTP 212.047 que establece un límite máximo de 7.0 g/L para el contenido de acidez total. Como también sustenta que la acidez total en la fermentación de jugo de caña de azúcar indica que los ácidos orgánicos en jugo constituyen una variable, la mayoría está presente en concentraciones relativamente bajas, pero se van incrementando como producto normales del metabolismo de la bacteria gram (-) *Zymomonas mobilis* ZOSSI et al., (2010).



#### 5.2.1.5 Biomasa

Por otro lado, durante el proceso de fermentación en la en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo presencia de biomasa en los tratamientos con células libres, mas no así en tratamientos de fermentación con células inmovilizadas, lo que nos indica que el factor de la inmovilización influyó directamente en la presencia o ausencia de biomasa, al parecer las células al estar inmovilizadas se concentraron en producir metabolitos y no en biomasa. Con estos resultados podemos decir que la inmovilización tuvo un efecto positivo en la producción de biomasa MARTÍNEZ, (2010).

Por otro lado guardan una relación con trabajo de investigación de producción de bioetanol con células inmovilizadas, que el factor que tiene mayor influencia en el crecimiento es el pH, para el caso de *Zymomonas mobilis* el pH donde se obtiene mayor producción de biomasa es de 3.02 (g/L), la temperatura no influye en el crecimiento, siempre y cuando se trabaje con pH óptimo MARTÍNEZ, (2010).

#### 5.2.1.6 Azúcares reductores (DNS)

Al realizar los análisis espectrofotométrico al final de proceso de fermentación en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. De acuerdo a nuestros resultados y al análisis estadístico se aprecian diferencias estadísticas y los tratamientos T6 y T5 presentaron valores ligeramente mayor de azúcares reductores al de los demás tratamiento al final de la fermentación; y justamente son tratamientos que iniciaron con una concentración de 20°Brix de jugo de caña, es decir que hasta el final de la fermentación mantuvieron el valor alto, lo que nos indica que este factor influyo más que la inmovilización y la proporción de la células libres o inmovilizadas.

El 95% del azúcares reductores que ingresa al proceso de fermentación en el jugo de caña azúcar es convertido en alcohol por la *Zymomonas mobilis*,



mientras que el 5% restante es empleado para el crecimiento celular y producción de otros metabolitos como ácidos orgánicos CALDERON, (2007)

En un estudio de fermentación con *Zymomonas mobilis* se observa que a medida que transcurre el tiempo del proceso de fermentación el consumo de los azúcares reductores va en aumento teniendo un máximo de consumo a las 36 horas BALON, (2009).

#### 5.2.1.7 Grado alcohólico

De acuerdo a los resultados de los análisis cromatógrafos en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados, al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor grados alcohólicos tratamientos que iniciaron la fermentación con jugo de caña a una concentración de 20°Brix, caso de T5 y T6 en células libres, y T1 y T2 de células inmovilizadas; lo que nos indica que el factor de la concentración inicial del jugo de caña influyó directamente en la producción de etanol, más que el estar inmovilizadas y/o en diferentes concentraciones. Estos resultados tienen relación con un estudio de fermentación a bajas concentraciones de jugo de caña de azúcares la producción de etanol es baja, pero a mayores concentraciones de azúcares en el sustrato, la producción de bioetanol es mayor cuando la fermentación se lleva a cabo con la bacteria *Zymomonas mobilis*, lo que indica que este microorganismo tolera mayores concentraciones de azúcares y de bioetanol en el medio MONTAÑEZ et al., (2011). Así también en otro estudio de fermentación de jugo de caña *Saccharum officinarum* L. por células de *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en donde los grados alcohólicos obtenidos fueron bajos alrededor del 13.48% de etanol en células inmovilizadas en  $\gamma$ -alúmina en sustrato de pasas LIZARRAGA (2012). Se obtuvo 9.0% de etanol de la cepa control *Zymomonas mobilis* 560 inmovilizadas con alginato de sodio 2% p/v (Cordoba 2002). Cuando la fermentación se lleva a cabo con la bacteria *Zymomonas mobilis* libre, se obtuvo una producción de bioetanol ( $8.2 \pm 0.3\%$  v/v) a partir de piña de Agave tequilana Weber Azul MONTAÑEZ et al., (2011). En otro estudio fermentaron jugo de las hojas del henequén (*Agave fourcroydes* Lem.)





mediante la bacteria *Zymomonas mobilis* libre, obtuvieron una producción máxima de etanol de  $5.22 \pm 1.09$  %v/v MONTAÑEZ et al. (2011).

Las condiciones de fermentación también pueden ser un factor importante en la producción de etanol; así el pH óptimo para el metabolismo de la bacteria es de 5 y 6.5; el oxígeno es otro punto importante ya que en su presencia se reduce en un 25% la producción de alcohol RODRIGUEZ (2015).

#### **5.2.1.8 Esteres, Acetato de etilo**

Los datos obtenidos del proceso de fermentación de los análisis cromatógrafos de acetato de etilo (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor presencia de esterres como acetato de etilo en los tratamientos T8 de células libres, seguido de T4 de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* es decir que los tratamientos con menor concentración de jugo de caña 10°Brix y a mayor concentración de inóculo 10 g/L tuvieron mayor presencia de estos compuestos es decir que tuvieron más efecto en la formación de esterres como acetato de etilo que la inmovilización. Se resalta los valores elevados de acetato de etilo y aldehídos, no deben ser mayor a 280 mg/100 ml de etanol anhidro y 60 mg/100 ml de etanol anhidro, respectivamente. Por otro lado, se observó que la concentración de metanol, el cual es un alcohol perjudicial para la salud, estuvo dentro de las especificaciones de la norma antes mencionada (4-100 mg/100 ml de etanol anhidro) los cuales según la NTP, (2006).

#### **5.2.1.9 Acetaldehídos**

Al observar el proceso de fermentación de los análisis cromatograficos de acetaldehídos (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor presencia de acetaldehídos en el T4 de células inmovilizadas, tiene menor





concentración de jugo de caña con 10°Brix y a mayor concentración de inóculo 10 g/L tuvieron mayor presencia de estos compuestos, posiblemente estas condiciones favorecieron para la formación de acetaldehídos en la fermentación. Como también se dice que los aldehídos son particularmente las características aromáticas de las fermentaciones, dichas concentraciones aumentan los valores bajos, de tal modo posteriormente van siendo oxidados POMAR, (1997).

#### **5.2.1.10 Iso butanol**

De la forma se observa que en el proceso de fermentación de los análisis cromatográficos de Iso butanol (mg/100 ml A.A) en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor presencia de Iso butanol el tratamiento T4, que es con células inmovilizadas con menor concentración de jugo de caña con 10°Brix y a mayor concentración de inóculo de 10 g/L tuvieron mayor presencia de estos compuestos, posiblemente estas condiciones favorecieron para la formación de este metabolito en la fermentación. Según la NTP 211.035, (2019) se contrasta que está dentro de los parámetro establecido de 60 a 350 (mg/100 ml A.A).

#### **5.2.1.11 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol**

También al obtener en el proceso de fermentación de los resultados de la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor presencia de 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol el tratamiento T4, que es con células inmovilizadas con menor concentración de jugo de caña con 10°Brix y a mayor concentración de inóculo de 10 g/L tuvieron mayor presencia de estos compuestos, posiblemente estas condiciones favorecieron para la formación de este metabolito en la fermentación. Según la NTP 211.035, (2019), está dentro de los parámetros establecidos de 60.0 a 350.0 (mg/100 ml A.A) de alcoholes superiores totales.



#### 5.2.1.12 Alcoholes superiores totales

Al obtener los resultados de los análisis cromatograficos en la obtención de etanol a partir de jugo de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. en dos concentraciones utilizando *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas en dos proporciones, a temperatura constante 38°C. Como podemos observar nuestros resultados al final de la fermentación se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, teniendo mayor presencia de alcoholes superiores en el T4 de células inmovilizadas tiene menor concentración de jugo de caña de 10°Brix y a mayor concentración de inculo de 10 g/L tuvieron mayor presencia de estos compuestos, posiblemente estas condiciones favorecieron para la formación de estos alcoholes en la fermentación. Como también indica la NTP 211.035, (2019) que los alcoholes superiores totales están de los parámetros establecidos de un máximo y mínimo de 60 a 350 (mg/100 ml A.A).



## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

- El comportamiento fermentativo de las concentraciones de los sólidos solubles de 20 y 10 °Brix de jugo de caña de azúcar para la obtención de etanol con las células libres e inmovilizadas de las *Zymomonas mobilis* influyo significativamente, destacando en varias características la mayor concentración por su mayor disponibilidad en la fermentación en °Brix, densidad, grados alcohólicos y azúcares reductores,
- Las proporciones de los inoculo de 7.5 y 10 (g/L) de células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* no tuvieron influencia en el proceso de fermentación de obtención de etanol a partir de jugo de Caña de Azúcar *Saccharum officinarum* L., pero si la condición de la cepa libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* en acidez total y biomasa.
- La caracterización fisicoquímica y los compuestos volátiles por cromatografía del etanol de las células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* tales como solidos solubles °Brix, pH, acidez total, densidad, extracto seco, azúcares reductores, grados alcohólicos °GL, acetato de etilo, esterés, acetaldehídos, Iso butanol, 3-Metil-1-butanol /2-metil butanol, alcoholes superiores; los mismos que se encuentran dentro de los rangos establecidos en la normativa nacional e internacional como la NTP 211.035:2019 y NTE INEN 372 para vino de uva.

#### 6.2 Recomendaciones

- Se recomienda a las nuevas generaciones de los tesisistas acondicionar los biorreactores para poder brindar las condiciones adecuadas para la toma de las muestras y así monitorear el proceso de fermentación para la obtención de etanol.
- Se recomienda a los productores de licores de aguardiente del valle de Pachachaca debe de utilizar esta nueva cepa de bacteria (-) *Zymomonas mobilis*, ya no produce metabolitos tóxicos como el metanol.
- Se recomienda a los nuevos tesisistas realizar el estudio de la reutilización de células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARCA, R.J.A., NAVARRETE, V.A. y CARPIO, 2010. Aislamiento y Caracterización de la Bacteria *Zymomonas mobilis*.

ASCENCIOS, D.T., 2013. Asistencia técnica dirigida en riego tecnificado en cultivo de caña de azúcar.

BALON, F.E.X., 2009. *Aprovechamiento de efluentes agroindustriales ricos en aguas almidonosas para la obtención de bioetanol mediante el uso de Zymomonas mobilis*. S.l.: Tesis de pregrado, Universidad Autónoma Agraria.

BALZARINI, M., DI RIENZO, J., TABLADA, M., GONZALEZ, L., BRUNO, C., CÓRDOBA, M., ROBLEDO, W. y CASANOVES, F., 2011. Estadística y Biometría. [en línea], Disponible en: [http://www.agro.unc.edu.ar/~mcia/archivos/Estadistica y Biometria.pdf](http://www.agro.unc.edu.ar/~mcia/archivos/Estadistica_y_Biometria.pdf).

CALDERÓN, J.F.V., 2017. Ajuste de un modelo cinético para el crecimiento de (*Lactobacillus acidophilus*) en la fermentación de un sustrato complejo.

CALDERON, N.M.P., 2007. *Evaluación del uso de antibióticos como mecanismo para el control de contaminantes bacterianos en la fermentación para la producción de alcohol etílico* [en línea]. S.l.: Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana. Disponible en: [http://digilib.unila.ac.id/4949/15/BAB II.pdf](http://digilib.unila.ac.id/4949/15/BAB%20II.pdf).

CASTILLO, A.K.P., 2010. Determinación de parámetros de co-cultivo de *Scheffersomyces stipitis* y *Saccharomyces cerevisiae* para la fermentación de residuos lignocelulósicos para la obtención de bioetanol. [en línea], Disponible en: <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/014520/014520.pdf>.

CASTRO, C.J.A., PRADO, E.C., PALADINES, ROMERO, J.R. y CERVANTES, A.Á., 2017. Factores Que Afectan Al Cultivo De Caña De Azúcar Para Producción De Bioetanol En Ecuador. *European Scientific Journal, ESJ*, ISSN 18577881. DOI 10.19044/esj.2017.v13n24p58.

CHIRINOS, M.G., PINTO, R.L.L. y HUAMÁN, R.C., 2019. Fermentación del moso de caña de azúcar en barriles de madera para la producción de aguardiente en el CIP Santo Tomas-Abancay. ,



CONADESUCA, 2015. Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar ficha tecnica de cultivo de caña de azúcar ( *Saccharum Officinarum* L .) Publicación Enero 2015. *Ficha Técnica*,

CONSTANZA, L.C., ANTOLINEZ, D.M.R., BOHORQUEZ, johanna A.M. y CORREDOR, A.M.V., 2015. Bacterias anaerobias procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. , ISSN 1794-2470. DOI 10.22490/24629448.1717.

CORDOBA, 2002. Producción de etanol con células inmovilizadas de *Zymomonas mobilis* spp.

CRUZ, J.A.B., 2022. Evaluacion de produccion de etanol a partir de bagazo de caña de azúcar en la empresa caña brava a nivel laboratorio. ,

DI RIENZO, J.A., GONZALEZ, L.A., TABLADA, E.M., CASANOVES, F. y ROBLEDO, C.W., 2011. InfoStat Manual del Usuario. ,

DONAIRES, L.Q., 2018. Fermentacion del mosto de caña de azúcar (*saccharum offinarum*) con uso de catalizadores naturales y comerciales para obtener aguardiente - pachachaca - Abancay - 2018. ,

ESCOBEDO, R.T., 1990. Determinación del contenido de sacarosa de seis cultivares de cana de azucar” (*saccharum officinarum* l.) en la zona de Iquitos. ,

GARCÍA, M.T.M., 2012. *Uso de levaduras seleccionadas osmotolerantes, libres y coinmovilizadas, para la producción de vinos dulces*. S.l.: Tesis doctoral, Universidad de Córdoba.

KALNENIEKS, M., 2014. Modeling of *Zymomonas mobilis* central metabolism for novel metabolic engineering strategies. , ISSN 1664302X. DOI 10.3389/fmicb.2014.00042.

KHOJA, A.H., YAHYA, S.M., NAWAR, A., ANSARI, A.A. y QAYYUM, M., 2018. Fermentation of Sugarcane Molasses Using *Zymomonas Mobilis* for Enhanced Bioethanol Production *Akademia Baru Journal of Advanced Research in Applied Fermentation of Sugarcane Molasses Using Zymomonas Mobilis for Enhanced Bioethanol Production*. ,

LARRAHONDO, J., 2018. Composición química de la caña de azúcar y determinación de la sacarosa en el proceso azucarero. ,



LIZARRAGA, E.A.O., 2012. Evaluación de la inmovilización de *Zymononas mobilis* CECTB - 4286 en dos tipos de soporte para la producción de etanol, utilizando como sustrato jugo de *Saccharum officinarum* de la caña de azúcar. [en línea], Disponible en: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3642/Lizarraga Otiniano%2C Ever.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3642/Lizarraga%20Otiniano%20Ever.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

MARCET, M.E.S., MARTÍNEZ, E.P., SANTANA, E.H., MARCET, E.G. y CARRILLO, E.R.U., 2017. El jugo de caña de azúcar como aditivo en la reutilización del bagazo de malta. [en línea], ISSN 0138-6204. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223158039005>.

MARTINEZ, A.M.H., 2016. Evaluación del proceso fermentativo utilizando células libres e inmovilizadas para obtener una bebida alcohólica tipo vino a partir de miel. ,

MARTÍNEZ, J.L., 2010. *Producción de bioetanol con células inmovilizadas*. S.l.: Tesis de pregrado, Instituto Politécnico Nacional.

MONTAÑEZ, J.L., VICTORIA, J.C., FLORES, R. y VIVAR, M.A., 2011. Fermentación de los fructanos del Agave tequilana Weber Azul por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol. , ISSN 07168756. DOI 10.4067/S0718-07642011000600002.

MORENO, 2017. CAÑA DE AZUCAR (*Saccharum officinarum* ). [en línea]. [Consulta: 22 junio 2022]. Disponible en: <http://slideplayer.es/slide/11122265/>.

NORMA, tecnica peruana, 2019. Requisitos fisico quimicos. ,

NTP, 2006. Normas técnicas peruanas para bebidas alcohólicas. [en línea]. S.l.: Disponible en: [https://www.elpiscoesdelperu.com/boletines/enero2008/NTP21100\\_Pisco.pdf](https://www.elpiscoesdelperu.com/boletines/enero2008/NTP21100_Pisco.pdf).

POLLACK, M.V., HELFGOTT, S.L. y TEJADA, J.S., 2018. El cultivo de caña de azúcar en la Costa del Perú durante los eventos de El Niño 1982-83 y 1997-98. *Ecología Aplicada*, ISSN 1726-2216.

POMAR, M.G., 1997. Envejecimiento de vino tinto de la D.O. Tacoronte-Acentejo: Influencia de la madera de roble y de las condiciones de vinificación en la evolución de parámetros fisico-químicos de interés enológico y su impacto sensorial. ,

PULIDO, A.E.A., 2020. *Dinámica de Crecimiento y Competencia para Zymononas*



*mobilis: una aproximación desde un modelo co-evolutivo basado en teoría de juegos.* 2020. S.l.: s.n.

REIN, P., 2012. *Ingeniería de la caña de azúcar* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9783870401429. Disponible en: <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>.

RODRIGUEZ, S. de los M.G., 2015. Extracción y caracterización de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica de caña de azúcar (*Saccharum Officinarum* L.). [en línea], Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/250076743.pdf>.

RUIZ, A.M., CANEDO, Y.L., NARVÁEZ, A.G. y ROBLES, C.J.H., 2016. Production of ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* coimmobilized: Proposal for the use of organic waste. *Agrociencia*, ISSN 14053195.

SILVA, G.N., DA SILVA, J.L.D., OLIVEYRA, L.M.R., MEILI, L. y ROSAS, R.M.G., 2019. Immobilization of lipase in biochar obtained from *Manihot esculenta* Crantz. , ISSN 0120100X. DOI 10.18273/revion.v32n2-2019001.

SWINGS, J. y DE LEY, J., 1977. The biology of *Zymomonas*. , ISSN 00053678. DOI 10.1128/mmbr.41.1.1-46.1977.

TEJADA, J.S., 2013. *Guía Técnica Manejo integrado de cultivo de caña de azúcar.* ,

THORNTON, R.M. y NIELSON, R.B., 1999. *Química orgánica Quinta edición.* [en línea]. [Consulta: 28 junio 2022]. Disponible en: [https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as\\_sdt=0%2C5&q=Swan%2C+H.+y+Karalazos%2C+A.+1990.+Las+melazas+y+sus+derivados.+Revista+Tecnología.+Geplacea.+No.+19.+España.+78-82p.+&btnG=](https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Swan%2C+H.+y+Karalazos%2C+A.+1990.+Las+melazas+y+sus+derivados.+Revista+Tecnología.+Geplacea.+No.+19.+España.+78-82p.+&btnG=).

TREJOS, V.M., ALZATE, J.F. y GARCIA, M.Á.G., 2009. Descripción matemática y análisis de estabilidad de procesos fermentativos. *DYNA (Colombia)*, ISSN 00127353.

VALENZUELA, C.I.O., 2014. Evaluación de la correlación entre el contenido de trash y compuestos fenólicos sobre el color del jugo de caña de azúcar.

YANG, S., FEI, Q., ZHANG, Y., CONTRERAS, L.M., UTTURKAR, S.M., BROWN, S.D., HIMMEL, M.E. y ZHANG, M., 2016. *Zymomonas mobilis* as a model system for production of biofuels and biochemicals. *Microbial Biotechnology*, ISSN 17517915. DOI10.1111/1751-7915.12408.



ZOSSI, S.B., CÁRDENAS, G.J., NATALIA, S. y SASTRE, M., 2010. Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina). [en línea]. [Consulta: 27 junio 2022]. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-30182010000100003](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-30182010000100003).





## ANEXOS



Tabla 38 — Análisis de solidos solubles (°Brix)

° BRIX	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	9.80	9.60	9.60	9.67	0.12
	T2	9.80	9.80	9.60	9.73	0.12
	T3	5.40	5.20	5.20	5.27	0.12
	T4	5.20	4.80	5.20	5.07	0.23
Celulas libres	T5	7.8	8	8.2	8.00	0.20
	T6	8.2	8.2	8.6	8.33	0.23
	T7	4	3.8	3.8	3.87	0.12
	T8	4	3.8	3.8	3.87	0.115470054

Tabla 39 — Análisis de pH

pH	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	3.56	3.57	3.59	3.57	0.02
	T2	3.56	3.56	3.55	3.56	0.01
	T3	3.31	3.35	3.27	3.31	0.04
	T4	3.34	3.36	3.36	3.35	0.01
Celulas libres	T5	3.52	3.56	3.54	3.54	0.02
	T6	3.54	3.51	3.50	3.52	0.02
	T7	4.00	3.80	3.80	3.87	0.12
	T8	4.00	3.80	3.80	3.87	0.115470054

Tabla 40 — Análisis de densidad ( $g/cm^3$ )

DENSIDAD	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	1.064	1.064	1.063	1.064	0.001
	T2	1.064	1.064	1.066	1.065	0.001
	T3	1.038	1.037	1.036	1.037	0.001
	T4	1.036	1.034	1.038	1.036	0.002
Celulas libres	T5	1.065	1.063	1.063	1.064	0.001
	T6	1.063	1.064	1.065	1.064	0.001
	T7	1.042	1.043	1.04	1.042	0.002
	T8	1.041	1.042	1.043	1.042	0.001

**Tabla 41** — Análisis de acidez total (g/L).

ACIDEZ	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	0.332	0.332	0.332	0.332	0
	T2	0.33	0.332	0.332	0.331	0.001
	T3	0.359	0.351	0.351	0.354	0.005
	T4	0.36	0.351	0.351	0.354	0.005
Celulas libres	T5	0.261	0.265	0.257	0.261	0.004
	T6	0.25	0.254	0.261	0.255	0.006
	T7	0.164	0.164	0.187	0.172	0.013
	T8	0.17	0.176	0.16	0.169	0.008

**Tabla 42** — Análisis de biomasa (g/ml).

BIOMASA	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	0	0	0	0	0
	T2	0	0	0	0	0
	T3	0	0	0	0	0
	T4	0	0	0	0	0
Celulas libres	T5	2.384	2.25	2	2.21	0.19
	T6	2.846	2.575	2.293	2.57	0.28
	T7	1.359	1.295	1.271	1.31	0.05
	T8	1.229	1.207	1.199	1.21	0.02

**Tabla 43** — Análisis de azúcares reductores (DNS)

DNS	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	4.13	4.15	4.16	4.15	0.02
	T2	3.65	3.66	3.65	3.65	0.01
	T3	3.64	3.68	3.66	3.66	0.02
	T4	3.65	3.66	3.63	3.65	0.02
Celulas libres	T5	4.61	4.59	4.63	4.61	0.02
	T6	4.64	4.65	4.65	4.65	0.01
	T7	3.93	3.92	3.94	3.93	0.01
	T8	4.11	4.11	4.1	4.11	0.005773503

**Tabla 44** — Análisis de grado alcohólico (° GL).

% ALCOHOL	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	8.1	7.95	8.25	8.1	0.15
	T2	8.08	8.12	7.8	8	0.17
	T3	4.3	4.8	4.4	4.5	0.26
	T4	3.2	3	2.81	3	0.2
Celulas libres	T5	11.5	11.2	11.8	11.5	0.3
	T6	10.3	10.8	11.3	10.8	0.5
	T7	5.7	6.3	6	6	0.3
	T8	6.2	6.4	6.6	6.4	0.2

**Tabla 45** — Análisis de esterres como acetato de etilo (mg/100 ml A.A).

ACETATO ETILO	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	15.6	15.8	15.4	15.6	0.2
	T2	18.1	17.9	18.3	18.1	0.2
	T3	38.1	38.3	38.5	38.3	0.2
	T4	57.8	57.2	58.4	57.8	0.6
Celulas libres	T5	23.1	23.2	23	23.1	0.1
	T6	19.5	18.8	19	19.1	0.36
	T7	0	0	0	0	0
	T8	84.9	85.1	85	85	0.1

**Tabla 46** — Análisis de acetaldehídos (mg/100 ml A.A).

ACETALDEHIDO	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	42.1	42.4	41.8	42.1	0.3
	T2	44.2	44.3	44.1	44.2	0.1
	T3	56.8	57.1	57.4	57.1	0.3
	T4	156.3	155.6	157	156.3	0.7
Celulas libres	T5	18.9	19.7	19.9	19.5	0.53
	T6	43.5	42.9	44.1	43.5	0.6
	T7	76.8	77.2	77.6	77.2	0.4
	T8	29.6	28.8	30.1	29.5	0.655743852

**Tabla 47** — Análisis Iso butanol (mg/100 ml A.A).

ISO - BUTANOL	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	34.9	34.8	35	34.9	0.1
	T2	39.1	40	39.4	39.5	0.46
	T3	46.8	45.6	46.5	46.3	0.62
	T4	90	90.8	90.7	90.5	0.44
Celulas libres	T5	58.6	60.4	60.1	59.7	0.96
	T6	58.9	58.8	59	58.9	0.1
	T7	51.6	52.4	52	52	0.4
	T8	25.9	26.9	27	26.6	0.608276253

**Tabla 48** — Análisis de 3 – metil -1- butanol/ 2 – metil butanol (mg/100 ml A.A).

3- Metil- 1- butanol/ 2-metil butanol	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	86.1	87.1	85.1	86.1	1
	T2	83.2	82.9	83.2	83.1	0.17
	T3	165.9	164	165.1	165	0.95
	T4	247.2	247.9	248	247.7	0.44
Celulas libres	T5	149.8	149.9	150.3	150	0.26
	T6	152	151.4	152	151.8	0.35
	T7	212.2	212.4	212	212.2	0.2
	T8	118.2	117.5	118	117.9	0.36

**Tabla 49** — Análisis de Alcoholes superiores (mg/100 ml A.A).

Alcoholes superiores totales	MUESTRA	REP 1	REP 2	REP 3	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
CELULAS INMOV.	T1	118.9	118.8	119.3	119	0.26
	T2	122.1	122.8	122.9	122.6	0.44
	T3	210.9	211.8	211.2	211.3	0.46
	T4	337.9	338.3	338.4	338.2	0.26
Celulas libres	T5	209	209.4	208.9	209.1	0.26
	T6	264	263.9	264.1	264	0.1
	T7	249.2	249.1	248.1	248.8	0.61
	T8	144.2	145	144.3	144.5	0.435889894

## PANELES FOTOGRAFICOS





### Anexo 01 — Caña de azúcar



### Anexo 02 — Ajuste de (pH) de jugo de caña de azúcar





**Anexo 03 — Pasteurización de jugo de caña de azúcar**



**Anexo 04 — Producción de biomasa *Zymomonas mobilis***





### Anexo 05 — Inmovilización de *Zymomonas mobilis*



### Anexo 06 — Fermentación de los tratamientos del jugo de caña de azúcar de *Zymomonas mobilis* libres e inmovilizadas



**RESULTADOS**  
**ANALISIS FISICOQUIMICO**



## Registro de análisis fisicoquímico Obtención de Etanol a partir de jugo de Caña de Azúcar *Saccharum officinarum* L. en Dos Concentraciones Utilizando *Zymomonas Mobilis* Libres e Inmovilizadas en Dos proporciones

- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 45 células inmovilizadas (T1)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/45 (1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	8.1	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	15.6	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	15.6	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	42.1	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	34.9	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	86.1	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	119.0	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 45 células inmovilizadas (T1)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/45 (1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	8.1	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	15.6	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	15.6	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	42.1	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	34.9	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	86.1	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	119.0	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%



Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 60 células inmobilizadas (T2)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/60 (I1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	8.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	18.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	18.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	44.2	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	39.5	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	83.1	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	122.6	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 60 P células inmobilizadas (T2)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/60 (I1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	8.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	18.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	18.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	44.2	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	39.5	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	83.1	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	122.6	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%  
N.D. No Detectable;

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.



- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 45 células inmobilizadas (T3)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACION DE JUGO DE CAÑA: 10/45 (I1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	4.5	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	38.3	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	38.3	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	57.1	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	46.3	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	165.0	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	211.3	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%  
N.D. No Detectable

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 45 p células inmobilizadas (T3)

<b>Nombre de la Muestra:</b> Jugo de Caña (Información Proporcionada por el solicitante)			
<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 10/45 (I1) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	4.5	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	38.3	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	38.3	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	57.1	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	46.3	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	165.0	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	211.3	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.





- primer envió de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 60 células inmobilizadas (T4)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACION DE JUGO DE CAÑA: 20/60 (11) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	3.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	57.8	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	57.8	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	156.3	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	90.5	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	247.7	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	338.2	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%  
N.D. No Detectable.

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envió de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 60 células inmobilizadas (T4)

<b>Nombre de la Muestra:</b> Jugo de Caña <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>			
<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 10/60 (11) INMOV"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	3.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	57.8	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	57.8	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	156.3	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	90.5	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	247.7	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	338.2	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 7.5 células libres (T5)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACION DE JUGO DE CAÑA: 20/7.5 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	11.5	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	23.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	23.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	19.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	59.7	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	150.0	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	209.1	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 7.5 células libres (T5)

<b>Nombre de la Muestra:</b> Jugo de Caña <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>			
<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/7.5 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	11.5	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	23.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	23.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	19.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	59.7	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	150.0	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	209.1	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.



- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 10 células libres (T6)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/10 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	10.8	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	19.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	19.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	43.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	58.9	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	151.8	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	264.0	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envío de cite agroindustrial Ica.  
20 °Brix / 10 células libres (T6)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 20/10 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 <small>(Descripción por el Solicitante)</small>	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA <small>(Descripción por el Solicitante)</small>		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI <small>(Información Proporcionada por el solicitante)</small>		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	10.8	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	19.1	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	19.1	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	43.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	58.9	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	151.8	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	264.0	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%  
N.D. No Detectable;

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.





- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 7.5 células libres (T7)

<b>Identificación y Estado:</b> U1 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACION DE JUGO DE CAÑA: 10/7.5 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	6.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	77.2	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	29.3	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	52.0	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	212.2	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	248.8	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 7.5 células libres (T7)

<b>Identificación y Estado:</b> O1 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA: 10/7.5 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	6.0	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	77.2	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	29.3	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	52.0	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	212.2	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	248.8	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%

N.D. No Detectable

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.



- Primer envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 10 células libres (T8)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA 10/10 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	6.4	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	85.0	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	85.0	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	29.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	26.6	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	117.9	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	144.5	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C v Humedad Relativa: 44.2%

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

- Segundo envío de cite agroindustrial Ica.  
10 °Brix / 10 células libres (T8)

<b>Identificación y Estado:</b> 01 muestra en botella de vidrio, aproximadamente 500 mL. Identificada como "FERMENTACIÓN DE JUGO DE CAÑA 10/10 (L1) LIBRE"			
<b>Marca:</b> SM (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Muestreo:</b> 28.02.2022 (Descripción por el Solicitante)	
<b>Lugar del Muestreo:</b> UNAMBA (Descripción por el Solicitante)		<b>Fecha de Recepción:</b> 04.03.2022	
<b>Muestreado por:</b> Sr. FIDEL LLALLI (Información Proporcionada por el solicitante)		<b>Fecha de Ejecución del Ensayo:</b> 09.03.2022 y 10.03.2022	
RESULTADOS			
Determinación	Unidad de medida	Resultados	Método de ensayo
Grado Alcohólico Volumétrico	°GL	6.4	NTP 212.030 (Validado)
Formiato de Etilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Acetato de Etilo	mg/100 ml A.A	85.0	NTP 211.035:2019
Acetato de Iso-Amilo	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Esteres, como acetato de etilo*	mg/100 ml A.A	85.0	NTP 211.035:2019
Acetaldehído	mg/100 ml A.A	29.5	NTP 211.035:2019
Iso-Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2015 (Método Validado)
Propanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Butanol	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019
Iso-Butanol	mg/100 ml A.A	26.6	NTP 211.035:2019
3-Metil-1-butanol / 2-metil-1-butanol	mg/100 ml A.A	117.9	NTP 211.035:2019
Alcoholes superiores, como alcoholes superiores totales*	mg/100 ml A.A	144.5	NTP 211.035:2019
Alcohol Metílico	mg/100 ml A.A	N.D.	NTP 211.035:2019

Temperatura ambiente: 20°C y Humedad Relativa: 44.2%  
N.D. No Detectable.

Fuente: Laboratorio cite agroindustrial Ica.

